Prix Laroze (1911) 1

Edmond MOREAU

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS (PHARMACIE)
PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE
EX-INTERNE DES DISPENSAIRES DE LA VILLE DE PARIS
INTERNE DES HÔPITAUX
CHIMISTE AU LABORATOIRE CENTRAL
DU SERVICE POUR LA RÉPRESSION DES FRAUDES

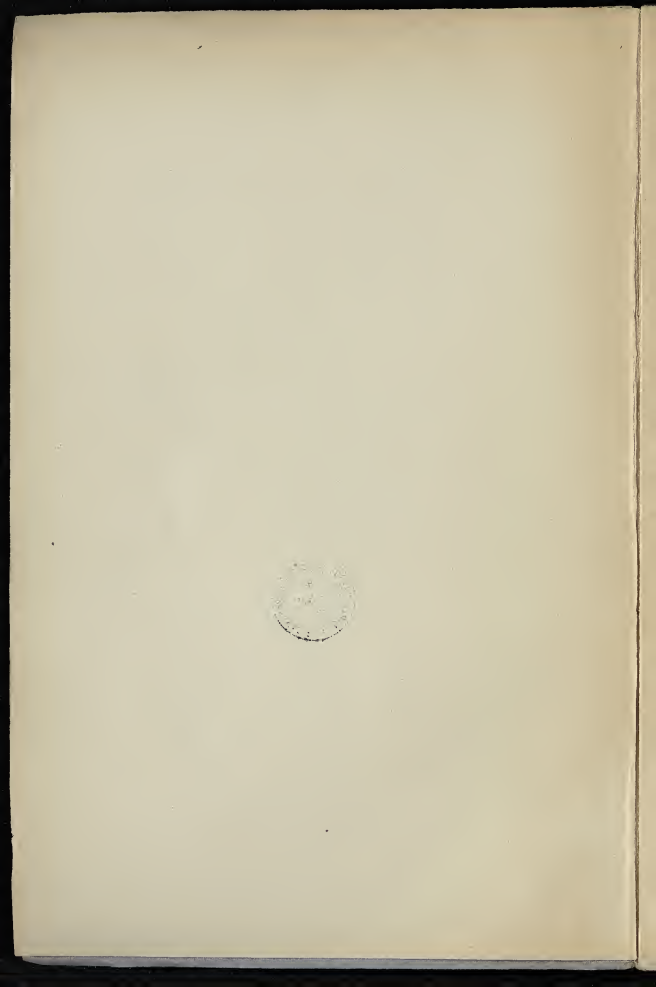
Etude chimique
Biologique & Bactériologique
des Miels français

Leurs principales falsifications



PARIS
G. STEINHEIL, ÉDITEUR
2, rue Casimir-Delavigne, 2

1911



Prix Laroze 1911 (1)

Edmond MOREAU

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS (PHARMACIE)
PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE
EX-INTERNE DES DISPENSAIRES DE LA VILLE DE PARIS
INTERNE DES HÔPITAUX
CHIMISTE AU LABORATOIRE CENTRAL
DU SERVICE POUR LA RÉPRESSION DES FRAUDES

Etude chimique
Biologique & Bactériologique
des Miels français

Leurs principales falsifications



PARIS
G. STEINHEIL, ÉDITEUR
2, rue Casimir-Delavigne, 2

1911

A M. A. VILLIERS

Professeur de Chimie analytique
Chevalier de la Légion d'honneur.

Hommage respectueux.

A M. E. ROUX

Docteur ès-sciences
Chef du service de la répression des fraudes
Chevalier de la Légion d'honneur.

Sincère reconnaissance.



INTRODUCTION

Ce travail a été fait au laboratoire de recherches des fraudes alimentaires (Ministère de l'Agriculture), sous la direction de M. E. Roux, que je prie d'agréer l'expression de ma vive reconnaissance, pour nous avoir permis de préparer le premier une thèse sous les auspices ministérielles dans les laboratoires si bien aménagés des fraudes alimentaires, au moment où la question des miels se réveille en notre pays.

Qu'il nous soit permis de remercier M. le Professeur Villiers, d'avoir bien voulu accueillir favorablement cette étude. Que le cher Maître, qui a encouragé tant de jeunes élèves, veuille bien accepter l'hommage de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

Nous voulons aussi exprimer notre profonde gratitude à M. le Professeur Coutière, qui a bien voulu nous faire l'honneur d'être membre de ce jury et à M. le Professeur agrégé Bougault, notre ancien préparateur et pharmacien-chef, dont les conseils nous ont été si précieux au début de ce travail.

Nous remercions également notre camarade et ami Sartory, docteur ès-sciences et lauréat de l'Institut, qui nous a aidé de ses conseils dans nos recherches microbiologiques.

Nous devons aussi à M. Dorveaux, bibliothécaire en chef de l'Ecole supérieure de Pharmacie et M. Gillot, bibliothécaire, une très sincère gratitude pour l'amabilité constante et la haute érudition qui ont aidé nos études bibliographiques.

Notre travail est divisé en deux parties :

Dans la première, divisée elle-même en plusieurs chapitres, nous avons fait l'examen du miel au point de vue : organoleptique et micrographique,
saccharimétrique,
chimique,
biologique,
bactériologique,
et nous avons appliqué cette étude à l'analyse des miels français.

Dans la seconde partie, nous avons traité :
des falsifications du miel,
des antiseptiques
et des miels toxiques.

Notre travail est précédé d'un chapitre préliminaire où nous donnons :
la définition du miel,
ses sources naturelles et artificielles
et son extraction.

Nous sommes absolument certain de l'origine des miels que nous avons étudiés. Ils nous ont été fournis directement par des apiculteurs connus, dont la bonne foi ne peut être mise en doute.

I

LE MIEL

Définition. — Le miel, au sens général du mot, est une matière sucrée, molle ou liquide, poisseuse, d'une saveur et d'une odeur plus ou moins agréables, récoltée sur les fleurs par les abeilles, les bourdons et même certaines guêpes ; ces insectes l'avalent, puis le dégorgent dans une partie des alvéoles qui forment les rayons ou gâteaux des ruches.

Mais le miel qui fera l'objet de cette étude est celui seulement qui est récolté par l'abeille domestique (*apis mellifica*)

D'après les Congrès internationaux de Genève (septembre 1908) et de Paris (octobre 1909), réunis sous le patronage de la Société universelle de la Croix-Blanche de Genève, « le miel est la substance que les abeilles produisent en transformant les sucs sucrés recueillis sur les végétaux et qu'elles emmagasinent dans les rayons. »

Cette définition du reste est conforme à celle adoptée par différents pays producteurs de miel :

D'après le comité de « l'Association of agricultural chemists » (1) aux Etats-Unis, le « miel est le nectar et

(1) *U. S. Dept. Agr. office of the secretary*, 19, p. 11.

les exsudations sucrées recueillies sur les plantes, modifiées et emmagasinées dans les rayons par les abeilles (*Apis mellifica* et *A. dorsata*). »

D'après les *Vereinbarungen Nahrungs-und, Genussmittel* (1), le miel « est le nectar provenant des fleurs visitées par les abeilles ouvrières qui, après modification dans leur estomac, est placé dans les cellules des rayons pour le nourrissement de la jeune couvée. »

Rappelons aussi que Lemery, en 1706, définissait le miel « la substance que les abeilles ramassent dans les fleurs de diverses plantes et qu'elles portent dans leur ruche pour leur nourriture et pour celle de leurs petites mouches... Cette substance reçoit dans l'abeille et dans la ruche une élaboration qui la perfectionne et la réduit en miel. ».

Ainsi défini, le miel ne doit provenir que du nectar ou encore des exsudations sucrées qui se produisent lors des années sèches à la surface de certaines feuilles.

Les sources naturelles du miel sont donc le nectar et la miellée.

Avant d'aborder cette étude sur le miel, il y a lieu de considérer brièvement l'origine et la composition de ces produits sucrés et les transformations que leur font subir les abeilles pour arriver au produit miel.

Nectar. — On sait que si l'on écarte la corolle d'une fleur de sainfoin par exemple, on observe au fond une petite goutte de liquide sucré, appelé nectar.

En 1717, Vaillant, dans son discours sur la « structure

(1) 1899, p. 116.

des fleurs », nomme miellier, la partie de la fleur qui produit ce liquide sucré.

En 1735, Linné, l'appelle nectaire (partie qui produit le miel).

Bravais (1) considère comme nectar, les glandes qui produisent la substance sucrée sur les pétioles des feuilles.

Caspary (2) distingue les nectars floraux et extra-floraux.

Et enfin, Bonnier (3), nomme nectaires ou tissus nectarifères, tout tissu en contact avec l'extérieur, dans lequel s'accumule en proportion notable, des sucres dans le genre saccharose ou glucose. D'où il ressort que tissus nectarifères ou nectaires, sont synonymes. Et en effet, on remarque en outre des fleurs, à la base des stipules des vesces, ou à la base du limbe des feuilles de cerisier, prunier ou même sur les cotylédons du ricin, un liquide très riche en sucres que l'on appelle nectar.

Origine du nectar. — Ce nectar se forme dans un tissu où s'accumule le sucre pour être entraîné ensuite par l'eau de la plante et sortir généralement par les stomates aquifères.

Composition chimique du nectar. — Des analyses de nectars ont été faites par différents auteurs.

Déjà, Vilson (4), avait déterminé la quantité de sucres réducteurs et de saccharose par fleur sur le fuchsia, le claytonia alsinoïdes, le clou de girofle, etc.

(1) Bravais, *Annales sciences naturelles*, 1842.
(2) Caspary, *De Nectarüs*, 1848.
(3) Bonnier, *Annales des sciences naturelles*, 1878.
(4) Vilson, *Chem. News*, 1878, 38, r. 93.

De Planta (1) a donné les analyses ci-dessous.

NECTAR DE	EAU °/₀	S. R. °/₀	SACCHAROSE °/₀	CENDRES °/₀
Protea mellifera............ .	82,34	17,06	»	»
Bignonia radicans............	84,70	14,84	0,44	0,45
Hoya carnosa.................	59,23	4,99	35,65	0,11

Bonnier (2) avait trouvé pour les nectars de chèvrefeuille, de lavande, de fritillaire, les résultats ci-joints :

NECTAR DE	EAU	GLUCOSE	SACCHAROSE	Dextrine, gommes, mat minérales et pertes.
Chévrefeuille..........	76	9	12	3
Lavande.............	80	7,5	8	4,5

Transformation du nectar. — Si l'on compare ces analyses de nectars et les analyses de miel (pages 39-42), on remarque :

1) Qu'il y a beaucoup plus d'*eau* dans le nectar que dans le miel.

2) Que la proportion de *saccharose* dans le nectar devient relativement très faible dans le miel fait.

3) Erlenmayer et de Planta se sont assurés que dans

(1) De Planta, *Zts. physiol. chem.*, 1886, 10, p. 227.
(2) Bonnier, *Les nectaires*, 1879.

le nectar des plantes, il n'y a pas trace d'acide formique, tandis que tous les miels en contiennent à l'état volatil.

Pour arriver à ces résultats importants, l'élimination de l'eau semble se faire par un double procédé :

par expulsion directe

et par évaporation dans les cellules.

a) *Par expulsion directe.* — D'après de Planta (1), l'appareil de concentration se trouverait dans l'estomac, l'eau se diffuserait au travers des membranes et serait expulsée au moyen des nombreux canaux de l'appareil urinaire.

D'autre part, un naturaliste russe, M. Nassonof, a décrit un organe particulier, situé entre les deux derniers anneaux de l'abdomen et servant d'après lui à la sécrétion de la transpiration ; c'est peut-être par là aussi qu'est expulsé une partie du surplus de l'eau.

b) *Evaporation de l'eau dans les cellules.* — Les jeunes travailleuses, après avoir reçu des butineuses le liquide sucré, l'étalent dans un grand nombre des alvéoles de la ruche et pour activer l'évaporation de l'humidité, les abeilles dites ventileuses, se placent en files parallèles près de l'entrée et battent des ailes avec rapidité ; lorsque le miel est ainsi concentré, elles l'operculent.

Transformation des sucres. — La transformation du saccharose en sucre interverti (glucose, lévulose) se fait dans le jabot, grâce au ferment invertisant du suc gastrique et de la salive. L'étude de ce ferment spécial a été faite pour la première fois par Fischer et Von Siebold en 1873 (2).

(1) Extrait de Hommel, *L'apiculture par les méthodes simples*, p. 34.
(2) *Pharm. Jahresberich*, 1873.

L'année suivante parurent les travaux d'Erlenmayer et de Von Planta (1).

Puis en 1902, J. Lauger (2) publie les premiers résultats de ses recherches physiologiques et biologiques sur les abeilles. — La transformation, qui n'est pas toujours complète, est peut-être due à une insuffisance d'invertine. Bonnier (3) a constaté en effet que les nectars qui contiennent une grande quantité de saccharose, donnent un miel renfermant de fortes proportious de saccharose. La même remarque peut s'appliquer au miel fourni par des abeilles « nourries » (Voir *Sources artif.*, p. 16) au moyen de solutions de sucre de canne, ou butinant aux environs des raffineries.

Présence de l'acide formique dans le miel. — De Planta pense que l'acide formique a son origine dans le sang, qui le dépose dans les glandes salivaires, dont la sécrétion se mélange au nectar pendant son séjour dans le jabot.

Miellée. — La seconde source naturelle du miel est la miellée.

Définition. — Les auteurs ont donné sur ce point des définitions et des idées différentes : c'est ainsi que Boussingault, De Dombasle donnent le nom de miellée à la matière visqueuse et sucrée qui apparaît sur les feuilles de certains arbres.

M. Lemaire, pense que la miellée est une sécrétion due au cambium et exsudant par les stomates.

(1) *Sitzungsber. d math. physikal*, 1874.
(2) *Zeits. f. Unters der. Nahr. u. genuss.*, 1902, 5, p. 204.
(3) Bonnier et de Lagens, *Cours d'Apicultvre*, p. 386.

D'après M. Leveillé, la miellée résulte de l'accumulation du suc qu'excrètent les pucerons par deux cornes qui se trouvent à la partie postérieure de l'abdomen ; cette humeur sort sous forme de gouttelettes et s'étend en couches uniformes sous l'influence des pluies ou de l'humidité. Cette sécrétion, par sa viscosité, retient les champignons microscopiques de l'air. »

Bonnier (1) a remarqué : 1°) que même sans aucun insecte sur les feuilles il y a cependant production de matière sucrée, surtout par les stomates : c'est la *miellée* proprement dite.

2°) Que très souvent aussi, des pucerons attaquent les feuilles particulièrement riches en liquide sucré, ne digèrent qu'une partie de la matière absorbée et expulsent la plus grande portion du liquide : c'est le *miellat*.

Composition chimique. — La miellée renferme une grande quantité de dextrine : 39 °/₀ pour Raumer (2), 19,99 pour Villey (3), du saccharose, des sucres réducteurs et aussi du melezilose signalé par M. Villiers (4) dans la manne de Lahore, par M. Maquenne (5) dans la manne du Turkestan et dans la miellée du tilleul. M. Maquenne (6) a trouvé aussi de la dulcite dans la miellée de l'Evonymus japonicus et Jaudrier (7) a rencontré de la mannite dans la miellée du platane.

La miellée est une ressource importante pour les

(1) Bonnier, *Soc. Biologie*, p. 82, 1896 (3).
(2) Raumer, *Zts. anal. chem.*, 33, p. 397, 1894.
(3) Willey, *Ann. Chem.*, J., 13 ; 24.
(4) Villiers, C. R., 84, 35.
(5) Maquenne, C. R., 117, 127.
(6) Id. *Bull. soc. Ch. Paris*, 31, 21, 1082.
(7) Jaudrier, C. R., 117, 498.

abeilles, mais le miel qui en résulte est toujours d'une couleur foncée et sans arome.

Sources artificielles du miel. — A côté de ces sources naturelles du miel, il y a lieu de signaler les moyens employés par les apiculteurs pour permettre aux abeilles de vivre en cas de mauvais temps, en hiver ou lorsque la saison printanière n'est pas mellifère.

Cette pratique, qui constitue le « nourrissement », consiste à alimenter temporairement les abeilles au moyen de miel ou de solutions sucrées contenues dans de petits appareils spéciaux appelés nourrisseurs.

M. Hommel (1) conseille, comme étant la meilleure nourriture, le miel. A défaut de celui-ci, dit-il « le seul adjuvant recommandable est le sirop fait avec le sucre cristallisé blanc ; le nourrissement artificiel est toujours une opération délicate, difficile et même dangereuse et on commettrait une faute grave en remplaçant plus de miel qu'il ne faut par du sirop. » Malheureusement pour l'apiculteur honnête, certains industriels peu scrupuleux emploient cette pratique, « mais le produit obtenu ne peut être désigné que sous la dénomination de miel de sucre. »

Quoi qu'il en soit, que les matières fournies aux abeilles proviennent du nectar, de la miellée ou de solutions sucrées artificielles, les transformations subies se ramènent à trois principales :

l'inversion du saccharose par les diastases des abeilles,
l'évaporation de l'eau dans la ruche par les ventileuses,
et l'addition d'acide formique.

(1) Hommel, *L'apiculture par les méthodes simples*, p. 210.

Extraction du miel. — Le miel ainsi emmaganisé dans les rayons est extrait de différentes façons, suivant que l'on a affaire à du miel de bruyère ou à du miel provenant de ruches vulgaires (paniers) ou de ruches à cadre (1).

1) *Ruches vulgaires.* — Les rayons sont brisés et abandonnés sur des claies à une douce chaleur.

2) *Ruches à cadres.* — Les rayons qui ont la forme d'un parallélipipède sont désorperculés au moyen d'un couteau spécial et introduits ensuite dans un mello-extracteur où le miel s'écoule des rayons par la force centrifuge.

Dans le cas de miel de bruyère où le produit est d'une consistance trop épaisse pour sortir des rayons, on est obligé d'avoir recours au procédé d'extraction des ruches vulgaires.

Quel que soit le procédé employé, le miel ainsi extrait est abandonné au repos dans un « épurateur » (vase muni à la partie inférieure d'un robinet) et quand les particules de cire sont montées à la surface, on soutire le miel et on le met dans des vases bien fermés.

(1) Les ruches à cadre sont des sortes de boîtes en bois divisées intérieurement en cadres mobiles dans lesquelles les abeilles font le miel.

II

EXAMEN DU MIEL

Les miels que nous avons étudié provenaient de miels en rayons ou de miels extraits ; nous avons fait nous-même l'extraction des miels en rayons, en désorpéculant les alvéoles au moyen d'une stapule de verre et en recueillant le miel dans une capsule. Le produit ainsi obtenu était renfermé dans un flacon à large goulot, fermant à l'émeri et conservé à la glacière.

Nous comprendrons dans l'analyse du miel :

l'examen organoleptique,
— *microscopique*,
— *saccharimétrique*,
— *chimique*,
— *biologique*,
— *bactériologique*.

Avant chaque essai ou analyse, nous avons mélangé intimement le miel dans les vases qui le renfermaient, au moyen d'un agitateur en verre et pour les miels trop épais ou ayant subi un commencement de cristallisation, nous nous sommes aidés de la douce chaleur d'un bain-marie réglé à 25°, jusqu'à liquéfaction suffisante.

1) Examen organoleptique.

Cet examen a pour but l'étude de l'appréciation de la couleur, de l'odeur, de la saveur et aussi de l'aspect de la solution au 1/10.

2) Examen microscopique.

On observe au microscope le dépôt obtenu après centrifugation de 5 gr. de miel dissous dans 10 cc. d'eau.

3) Examen saccharimétrique.

Cet examen a pour but la recherche et le dosage des matières sucrées ; il comprend lui-même deux parties :

I° Le dosage polarimétrique des sucres avant inversion et après inversion ;

II° Le dosage des sucres réducteurs avant et après inversion.

I° Examen polarimétrique. — Il y a lieu de remarquer : *a*) « Que le pouvoir rotatoire gauche du lévulose varie rapidement avec la température : à mesure que celle-ci augmente ou diminue, la déviation diminue ou augmente ; mais cette modification n'est que passagère et elle disparaît en même temps que l'on revient à la température initiale. »

b) « Que le pouvoir rotatoire oscille selon l'acide employé pour faire l'inversion : l'acide chlorhydrique et surtout l'acide sulfurique élèvent d'une manière notable le pouvoir rotatoire du glucose. La modification éprouvée

par le lévulose (et manifestée par le changement du pouvoir rotatoire), persiste même après la neutralisation des acides. »

On emploiera donc des acides minéraux d'une façon ménagée, en proportion telle que le saccharose soit complètement interverti, sans qu'il y ait pour cela une altération du lévulose (1).

Mais une première difficulté, facile à surmonter du reste, se présentait : le miel est légèrement acide et cette acidité attribuée à l'acide formique est due aussi à d'autres acides organiques (acide citrique) ou aux sels de ces acides.

Il faut donc pouvoir d'abord verser assez d'acide chlorhydrique pour que les acides organiques soient complètement déplacés « avant d'ajouter la quantité d'acide minéral qui aurait suffi à l'interversion en l'absence de sels à acide organique. »

Mode opératoire. — Ces considérations générales étant faites, on opérera de la façon suivante pour l'examen des sucres au polarimètre avant et après inversion et pour ce même examen des sucres réducteurs avant et après inversion.

On dissout 25 gr. de miel dans 50 cc. d'eau environ ; on fait passer dans un ballon jaugé de 250 cc. en ayant soin de rincer le vase qui a servi à faire la pesée du miel ; on précipite ensuite la matière colorante, les matières albuminoïdes par du sous-acétate de plomb que l'on verse goutte à goutte jusqu'à cessation de préci-

(1) M. Villiers, *Traité des falsif. aliment.*, M. Villiers, Collin, Fayolle, p. 12, t. III.

pité (1) et on complète à 250 cc., au moyen d'eau distillée, en s'aidant au besoin vers la fin, d'un compte-goutte ou d'une burette.

Une telle solution, malgré l'addition de sous-acétate de plomb et les filtrations répétées, est opalescente. On arrive à avoir une solution limpide en ajoutant 0 gr. 50 à 1 gr. de charbon animal lavé. On agite fortement, on laisse en contact cinq minutes et on filtre dans un vase parfaitement sec (solution A).

Remarques. — La défécation au sous-acétate de plomb et la clarification au charbon entraînent une petite perte de sucres. Mais l'emploi ménagé de l'un et de l'autre, ne cause pas de différence sensible.

On pourrait employer aussi pour faire la défécation, le réactif de Courtonne (2) et préférablement à ce dernier et au sous-acétate de plomb, le réactif de Patein (3)

Mode opératoire pour déféquer au réactif de Patein. — On ajoute à 25 gr. de miel dissous dans 100 cc. d'eau environ dans un vase de 250 cc., 10 cc. du réactif ; on verse dans le mélange de la lessive de soude étendue jusqu'à réaction neutre ; on filtre, on lave le précipité

(1) Remarque. — On évitera de mettre un excès de sel de plomb qui gênerait pour la lecture polarimétrique et pour le dosage des sucres réducteurs au Fehling. Du reste, avant de compléter à 250 cc., on pourra enlever l'excès de sel de plomb au moyen d'une solution saturée de sulfate de soude ou de $CO^3 Na^2$.

(2) *Réaction de Courtonne.* — Acétate neutre de plomb, 30 gr. — Eau distillée, QS. pour 100 cc. — Acide acétique, QS. pour avoir une réaction neutre au tournesol.

(3) *Réactif de Patein.* — Mêler 20 cc. d'oxyde jaune de mercure avec 40 cc. d'eau. Ajouter QS. d'acide azotique pour dissoudre. Neutraliser avec la lessive de soude jusqu'à commencement de précipitation. — Compléter à 100 cc. — Filtrer.

et le vase où l'on a versé le réactif avec de l'eau distillée et on complète à 250 cc.

Pour faire le dosage au Fehling, on élimine au préalable le mercure : on prélève pour cela 10 cc. de la solution précédente, que l'on verse dans un vase jaugé de 100 cc. ; on ajoute 1 gr. de zinc en poudre, on agite de temps en temps pendant trois à quatre heures. On alcalinise avec la lessive de soude, on complète à 100 cc. et on filtre. Le liquide est prêt à être examiné au Fehling.

Ce réactif, dispensant de l'emploi du charbon et précipitant tous les composés azotés, est précieux pour des analyses rigoureusement exactes, mais dans la pratique, la défécation au sous-acétate de plomb et la clarification au charbon donnent des résultats suffisamment exacts et rapides.

Avec la SOLUTION A, on examine la déviation polarimétrique avant inversion et on prépare les solutions suivantes :

1) SOLUTION B. — Cette solution est destinée à étudier les sucres réducteurs au Fehling.

Avant *inversion* : 10 cc. de la solution A sont étendus à 100 cc. au moyen d'eau distillée (Voir préparation et emploi de la liqueur de Fehling, page 25).

2) SOLUTION C. — Cette seconde solution est destinée à étudier les déviations polarimétriques après inversion, et la quantité de sucres réducteurs également.

Après *inversion* : on verse 50 cc. de la solution A dans une fiole à inversion des sucres 50-55 cc.

On ajoute goutte à goutte de l'acide chlorhydrique dilué (au 1/10) en présence d'*une goutte* d'orangé

n° 3 (1) jusqu'à ce que la dernière goutte, après agitation, donne une coloration rouge tenace. On ajoute alors 2 cc. 5 d'acide chlorhydrique dilué à 5 °/₀, on complète à 55 cc. avec de l'eau distillée et on agite.

On fait alors l'inversion : soit par la méthode de Clerget, soit par celle de M. A. Villiers.

1re Méthode. — On met le ballon dans un bain-marie, dont on élève la température, de façon que le liquide de la fiole passe de 15° à 67-68° en 10 à 12 minutes. On retire du bain-marie et on laisse refroidir.

2e Méthode. — « On décante le liquide de la fiole 50-55 cc. dans un ballon adapté à un réfrigérant ascendant ; on fait bouillir doucement pendant cinq minutes en ayant soin de ne pas chauffer les bords du ballon ». On ramène ensuite à la température de 15°.

Pour faire l'examen polarimétrique des solutions A et C, on note soigneusement la température des liquides. Pour cela, on se sert de tubes polarimétriques dont la température est rendue à peu près uniforme par un séjour prolongé dans l'eau froide.

Au moyen d'un thermomètre divisé en 1/10 de degrés, on détermine la température des solutions *avant* et *après* l'examen polarimétrique : avant, en plongeant le thermomètre dans les fioles contenant les solutions ; après, en enlevant un des bouchons du tube et en plongeant le thermomètre dans le liquide contenu dans le tube. On fait la moyenne des températures observées.

Lecture de la déviation. — Les résultats sont notés en prenant la moyenne de quatre lectures faites en

(1) Prép. de la solution orange, n° III. Faire une solution aqueuse à 1/500

plaçant le tube suivant certaines conditions : c'est ainsi qu'une première lecture étant faite, on fait subir au tube une demi rotation, puis on le retourne de bout à bout, on fait une troisième lecture et on lui fait encore subir une demi rotation.

II° Examen des sucres réducteurs. — *Avant inversion.* — On pipette dans une capsule de porcelaine ou mieux dans un vase d'Erlenmayer, 10 cc. de liqueur de Fehling titrée ; on ajoute 20 cc. d'eau, un peu de pierre ponce granulée et on porte à l'ébullition.

On fait tomber goutte à goutte la solution B, contenue dans une burette graduée, jusqu'à décoloration de la liqueur, ce dont on s'aperçoit en tournant le dos à la lumière et en observant le ménisque. Une goutte ou deux de solution sucrée, font généralement virer au jaune le liquide ; là encore, le ménisque permet d'observer facilement la teinte jaune.

Après inversion. — 10 cc. de la solution C sont dilués à 100 cc. avec de l'eau distillée, après neutralisation à la potasse (solution E).

L'examen se fait ensuite comme pour la solution précédente.

Calcul des sucres réducteurs et du saccharose. — *a) Calcul des sucres réducteurs* : 10 cc. de la liqueur de Fehling employée correspondant à 0 gr. 05 de sucre interverti, nous avons calculé les sucres réducteurs (S. R.) avant et après inversion, et le saccharose, de la façon suivante :

n cc. de solution sucrée réduisent 10 cc. de liqueur de Fehling et contiennent par conséquent 0 gr. 05 de sucres réducteurs. Donc,

si n cc. de solution B correspondent à 0 gr. 05

1 cc. — — $\frac{0,05}{n}$

et 10 cc. — — $\frac{0,05 \times 10}{n} = S. R.$

Or, 10 cc. du liquide B correspondent à 1 gr. de miel, en multipliant par 100, on aura le poids de sucres réducteurs contenus dans 100 gr. de miel.

On fera de même pour calculer le poids S. R. de la solution E (Ap. I.), mais on augmentera de 1/10 les résultats trouvés, puisque la solution E est faite avec 10 cc. de la solution C qui est diluée à 55 cc.

b) Calcul du saccharose. — Connaissant le poids de sucres réducteurs, avant et après inversion, la différence multipliée par 0,95 nous donnera le poids de saccharose.

Préparation de la liqueur de Fehling. — Dans nos titrages de sucres réducteurs, nous avons employé une liqueur de Fehling, préparée de la façon suivante.

Nous avons pris :

A.	Sel de seignette chimiquement pur....	173 gr.
	Lessive de soude ou de potasse à 36° B.	200 cc.
	Eau distillée Q S. pour..............	500 cc.
	Sulfate de cuivre chimiquement pur crist.	34 gr. 65
	Eau dist. Q S. pour...........	200 cc.

On dissout le sel de seignette dans l'eau distillée à chaud, à laquelle on ajoute la lessive de soude. On laisse refroidir et on fait exactement 500 cc. de liqueur A. qu'on filtre sur un tampon de coton de verre.

Dans le flacon contenant la solution A, on ajoute la solution B tiède, par petites portions, en agitant énergi-

quement après chaque addition, pour réduire le précipité formé ; on ajoute finalement Q S. d'eau pour faire 900 cc., on agite et on titre avec la solution de sucre interverti suivante :

Titre de la liqueur de Fehling. — On dissout dans 150 cc. d'eau distillée, 0 gr. 475 de saccharose préalablement pulvérisé et desséché. On additionne cette solution de 20 cc. d'acide sulfurique $\frac{N}{10}$ et on la place au bain-marie bouillant pendant une 1/2 heure ; après refroidissement, on l'additionne de 20 cc. de potasse $\frac{N}{10}$ et on complète à 200 cc.

10 cc. de liqueur de Fehling, doivent correspondre à 20 cc. de cette solution type, soit à 0 gr. 05 de sucre interverti.

En effet :

$$\underbrace{C^{12} H^{22} O^{11}}_{\substack{342 \\ 0,475}} + \underbrace{H^2 O}_{18} = \underbrace{C^6 H^{12} O^6 + C^6 H^{12} O^6}_{\substack{360 \\ 0,50}}$$

et 0,05 doivent réduire exactement 10 cc. de liqueur de Fehling.

Mais la liqueur préparée étant trop forte, il faudra plus de 20 cc. de solution sucrée pour en réduire 10 cc. On l'ajoutera par calcul.

Exemple. — 10 cc. de liqueur de Fehling sont réduits par 22 cc. de liqueur sucrée, c'est-à dire correspondant à

$$\frac{0,05 \times 22}{20} = 0,055 \text{ de S. I.}$$

Donc, 0,050 de S. I. correspondent à :

$$\frac{10 \times 0,050}{0,055} = 9 \text{ cc. } 09,$$

soit une différence de 10 — 9,09 = 0,91.

Pour 10 cc. de liqueur de Fehling, la quantité d'eau à ajouter sera donc :

$$\frac{0,91 \times 10}{9,09} = 1 \text{ cc.}$$

La liqueur est alors corrigée et par un nouveau titrage, 20 cc. de liqueur sucrée (0 gr. 05 de S. I.) devront réduire 10 cc. de liqueur de Fehling.

Examen chimique et biologique

Dans chacune de ces deux parties, nous étudierons les procédés que nous avons employés pour caractériser et doser les autres éléments de miel et en particulier certains, jusqu'alors peu recherchés et encore moins dosés.

4. — Examen chimique.

L'examen chimique comprendra :

a) *L'identification et le dosage des substances protéiques.*

b) *La recherche et le dosage de la dextrine.*

c) *Le dosage et l'examen des cendres.*

d) *Le dosage de l'eau.*

e) *Le dosage de l'acidité.*

a) **Identification et dôsage des substances protéiques.** — Définition. — Les matières protéiques ou albuminoïdes, peuvent être considérées comme des nitriles complexes à poids moléculaires très élevés, aptes

à s'hydrater sous l'influence des ferments, des acides ou des alcalis étendus et formés essentiellement de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, d'azote et de soufre ; outre qu'elles dévient à gauche, le plan de la lumière polarisée, elles présentent des réactions de coloration et des réactions de précipitation.

C'est à l'aide de ces derniers caractères que nous avons caractérisé, isolé et dosé en partie les substances protéiques contenues dans les miels.

A. — Essai qualitatif. — *Action de la chaleur.* — La chaleur coagule les substances albuminoïdes naturelles, en milieu acide et en présence de sels. On dissout à froid 10 gr. de miel dans 50 cc. d'eau distillée et on filtre. On ajoute à la solution à étudier 6 gr. de chlorure de sodium ou de sulfate de magnésie, quelques gouttes d'acide azotique ou d'acide acétique et on porte à l'ébullition. Un trouble même léger, ne disparaissant pas par addition d'un nouvel excès d'acide ou un précipité floconneux, indique la présence de matières albuminoïdes.

Si l'on veut vérifier que l'on a bien affaire à des matières protéiques, on recueillera sur un filtre sans plis ce précipité, on le lavera à l'eau distillée, on percera le filtre et à l'aide du jet d'une pissette, on fera passer le précipité dans un tube d'essai.

On fera alors les deux réactions de coloration suivantes :

α) Réaction xanthoprotéique. — On ajoute à la substance albuminoïde supposée, en suspension dans l'eau, quelques gouttes d'acide azotique et on porte à l'ébullition ; les flocons albuminoïdes et la solution elle-même prennent bientôt une coloration jaune. Abandonnons au refroidissement et faisons couler à la surface du liquide

contenu dans le tube une solution d'ammoniaque ; les flocons albuminoïdes de la partie supérieure du liquide alcalinisé se colorent en jaune-orange, tandis que les flocons des couches inférieures du liquide restent colorés en jaune. Si nous mélangeons, flocons et solution se colorent uniformément en jaune orange.

β) *Réaction de Millon.* — La substance albuminoïde en suspension dans l'eau est additionnée de 1 gr. de réactif de Millon. On porte à l'ébullition. Les flocons albuminoïdes se colorent rapidement en rouge foncé.

Préparation du réactif. — Dissoudre 1 gr. de mercure dans 2 cc. d'acide azotique de D : 1,42, d'abord à froid, élever légèrement la température, et lorsque tout le mercure a disparu, ajouter à 1 volume de cette solution 2 volumes d'eau.

II). *Action de l'acide azotique.* — On verse dans un tube à essai ou dans un verre à expérience de l'acide azotique et on fait couler à l'aide d'une pipette, à la surface de l'acide azotique, la solution de miel à examiner ; il se fait plus ou moins vite, selon la plus ou moins grande quantité de matières albuminoïdes, un anneau blanc à la surface de séparation des deux liquides.

III). *Action de l'acide trichloracétique.* — On ajoute goutte à goutte de l'acide trichloracétique (solution à 30 °/₀). On a un précipité blanc.

IV). *Action du ferrocyanure de potassium et de l'acide acétique.* — On prend la solution de miel ; on y ajoute 1 cc. d'acide acétique et autant de ferrocyanure de potassium en solution concentrée. Il se fait un louche, suivi d'un dépôt floconneux.

V). *Action du tannin.* — Une solution de tannin à

4 $^{o}/_{o}$, ajoutée à la solution de miel, donne un précipité s'agglomérant en flocons et dont l'intensité est en rapport avec la quantité d'albumine en présence.

VI). *Action du réactif d'Esbach.* — La solution picrique d'Esbach se prépare en prenant :

Acide picrique	1 gr.
Acide citrique	2 gr.
Eau	10 gr.

Ce réactif versé dans la solution de miel, donne un précipité jaune se réunissant plus ou moins vite au fond du tube dans lequel on a fait l'essai.

VII). *Action du réactif de Tanret.* — La solution d'iodhydrargyrate de potassium se prépare avec :

Chlorure mercurique	2 gr. 11
Iodure de potassium	5 gr. 187
Acide acétique crist.	31 cc.

Ce réactif, excessivement sensible, précipite outre les albuminoïdes (albumine proprement dite et globuline), les peptones, mais la chaleur fait disparaître le précipité dû aux peptones.

La présence incontestable des matières albuminoïdes étant établie, il était intéressant de rechercher à quel genre de matière protéique on avait affaire.

Tout d'abord, la substance albuminoïde, coagulable par la chaleur, précipitant par l'acide trichloracétique, le tannin, etc., est-elle une albumine ou une globuline ou un mélange des deux ?

Un seul caractère permet de les différencier nettement ; il est relatif à leur solubilité dans l'eau ou dans les dissolutions salines : A) l'albumine est soluble dans l'eau

pure ; le sulfate de magnésie à saturation ne la précipite pas de ces solutions neutres. B) La globuline, par contre, est insoluble dans l'eau pure, mais soluble dans les solutions salines faibles de sulfate de magnésie ; le sulfate de magnésie à saturation la précipite de ces solutions.

Pour appliquer cette double propriété aux albumines naturelles des miels, on neutralise avec une solution $\frac{N}{10}$ de soude en présence de phtaléine du phénol, une solution de miel à 10 p. 30 d'eau et on sature le mélange de sulfate de magnésie. Un louche, presque immédiat suivi après quelques heures d'un précipité floconneux, indique la présence de globuline.

Le liquide séparé de la globuline par filtration, acidulé par quelques gouttes d'acide acétique, est porté à l'ébullition. L'existence d'albumine est révélée par le précipité floconneux qui se fait de suite.

Si maintenant on sépare ce second précipité du liquide dans lequel il est contenu, et que l'on ajoute au liquide filtré une solution en excès de tannin, de réactif citro-picrique, de réactif de Tanret..., on constate un trouble et après 24 heures un dépôt floconneux. Il est donc permis de croire que l'on se trouve en présence de protéoses vraies ou de peptones ou des deux à la fois.

Recherches des protéoses vraies ou albumoses. — On reprend un nouvel échantillon de miel, on le met en solution, on filtre et on coagule les matières albuminoïdes naturelles par la chaleur après avoir acidulé et ajouté du chlorure de sodium. On filtre. Le liquide filtré est saturé de sulfate d'ammoniaque à chaud ; on abandonne au repos et après 24 heures, le précipité formé

est recueilli sur un filtre. On le lave avec une solution saturée de sulfate d'ammoniaque et on le fait passer dans un tube à essai, à l'aide du jet d'eau chaude d'une pissette, après avoir percé le filtre.

On pourra se convaincre de la présence des albumoses en faisant la réaction du biuret ou en précipitant par le tannin acétique (après dilution), ou le réactif de Tanret ou le réactif d'Esbach.

Ces différents précipités sont solubles à chaud, alors que ceux dus aux albumines naturelles ne le sont pas.

Dans la solution saturée de sulfate d'ammoniaque et débarrassée du précipité d'albumoses, on pourra rechercher les peptones, s'il y en a, par la réaction du biuret.

B. — Essai quantitatif. — Dosage des matières albuminoides. — On dosera :

I° Les matières albuminoïdes coagulables par la chaleur.

II° Les matières albuminoïdes de transformation.

III° Les matières albuminoïdes totales.

Les méthodes des « dépôts » (méthode d'Esbach, méthode de Lund), manquant de précision dans le cas d'analyses délicates, on devra recourir au procédé gravimétrique.

I° *Dosage des albumines coagulables par la chaleur.* — On dissout 10 gr. de miel dans 50 cc. d'eau distillée. Après filtration, on ajoute 6 gr. de chlorure de sodium ou de sulfate de magnésie et quelques gouttes d'acide azotique ou d'acide acétique. On porte à l'ébullition qu'on maintient une minute dans un vase à précipitation chaude, en agitant constamment. On laisse refroidir afin d'avoir un précipité bien rassemblé.

Pour le recueillir et le peser, on emploie la méthode des « filtres pesés » ou des « filtres tarés. »

α) *Filtres pesés.* — On dessèche à l'avance un filtre à l'étuve de 100° et on l'introduit dans un flacon à tare bouchant à l'émeri. Après une demi-heure environ, on retire de l'étuve et on ferme le flacon. Après refroidissement on pèse. On remet à l'étuve en laissant entr'ouvert la fiole ; on fait une seconde pesée après quelque temps, et lorsque le résultat reste constant, le filtre est prêt à servir.

β) *Filtres tarés.* — Deux filtres égaux sont faits avec le même papier. On enlève de petites portions à l'un d'eux, jusqu'à ce qu'ils se fassent exactement équilibre sur le plateau de la balance. On fait la filtration dans les deux filtres emboîtés l'un dans l'autre, en perçant au besoin le filtre extérieur pour ne pas retarder la filtration.

Le ou les filtres ainsi prêts, on verse le précipité dessus et on le lave à l'eau chaude, jusqu'à ce que l'eau de lavage ne précipite plus par l'azotate d'argent ou par le chlorure baryum (selon que le sel ajouté est NaCl ou SO^4 Mg). On rince à l'alcool et finalement à l'éther. On desséche à l'étuve à 100°, une heure et on pèse.

Remarques. — 1) Il est nécessaire d'ajouter du chlorure de sodium ou du sulfate de magnésie si l'on veut avoir une précipitation complète, le miel étant pauvre en sels minéraux (Voir analyses, p. 40 et 41).

2) La réaction doit être faiblement acide. Un trop grand excès d'acide acétique par exemple, transformerait à l'ébullition les matières albuminoïdes naturelles en acid-albumines solubles ; par contre, en liqueur alcaline ou neutre, on n'aurait pas non plus une précipitation parfaite.

3) Enfin, une correction nécessitée par la présence des sels est nécessaire. En effet, les matières minérales des miels et les sels ajoutés pour favoriser la précipitation peuvent être englobés dans le coagulum. On incinérera donc le filtre chargé d'albumine et on déduira le poids des cendres de la quantité d'albumine brute primitivement obtenue.

Dosage de la globuline et de l'albumine. — 100 gr. de miel sont mis en solution dans 50 cc. d'eau. On neutralise en présence de phtaléine de phénol à l'aide d'une solution $\frac{N}{10}$ de NaOH ; on sature à froid le liquide de sulfate de magnésie. On abandonne 24 heures au repos et on jette sur un filtre taré. On lave ce précipité avec une solution saturée de $SO^4 Mg$. Le filtre et le précipité sont portés à l'étuve à 100° ; les globulines sont ainsi coagulées. On lave ensuite à l'eau distillée pour enlever le sulfate de magnésie imprégnant le filtre et le précipité. On reporte le tout à l'étuve à 100° pour dessécher et on pèse. La liqueur saturée de sulfate de magnésie et les eaux de lavage sont réunies. On acidule par l'acide azotique ou l'acide acétique et on porte à l'ébullition ; la sérine est ainsi précipitée. On la jette sur un filtre taré, on lave à l'eau distillée chaude, à l'alcool et à l'éther et on pèse. Mais connaissant le poids total de l'albumine (albumine et globuline), on peut se contenter de peser la sérine et de déduire la globuline.

II° *Dosage des matières albuminoïdes de transformation.* — Le dosage de ces éléments pourra se déduire facilement : par différence, puisque l'on connaît le poids d'albumine coagulable par la chaleur d'une part, et la

quantité d'azote totale calculée en matières albuminoïdes d'autre part.

III° *Dosage de l'azote total.* — Nous nous sommes servis de la méthode Kjeldhal : 5 gr. de miel sont dissous dans une certaine quantité d'eau ; on jette sur un filtre pour retenir le pollen (1) et les débris divers. On lave convenablement le filtre à l'eau distillée et on évapore à feu doux ou BM, jusqu'à consistance sirupeuse, dans le ballon même où se fera l'attaque. On opère avec 50 cc. d'acide sulfurique et 1 gr. de mercure. Lorsque la liqueur est incolore ou tout au moins limpide, on continue l'opération selon la méthode habituelle en saturant par de la soude décarbonatée. On précipite ensuite le mercure, soit avec quelques centimètres cubes de solution concentrée de sulfure de sodium ou avec 1 gr. environ d'hypophosphite de soude, préalablement dissous dans un peu d'eau (Maquenne et Roux).

On recueillera l'ammoniaque dans 20 cc. d'une solution d'acide sulfurique déci-normale ; on titrera ensuite l'acide non combiné avec une solution $\frac{N}{10}$ de soude.

Le poids d'azote se calculera en multipliant le nombre de centimètres cubes d'acide sulfurique saturés par l'ammoniaque, par le coefficient, 0,0014.

Mais comme on se trouve en présence de petites quantités de matières azotées, si l'on veut avoir un dosage très exact, on aura avantage à recourir au procédé de M. A. Villiers :

On recueille l'ammoniaque dans de l'acide chlorhy-

(1) Voir azote total de certains pollens, p. 43.

drique (2 à 3 cc. pour 15 à 20 cc. d'eau); l'ammoniaque est ainsi à l'état de chlorhydrate en présence d'un excès d'acide chlorhydrique. Cette solution est évaporée à sec au bain-marie, dans une capsule de porcelaine; le residu est repris par un peu d'eau et filtré dans un vase cylindrique en verre de Bohême (Becherglass) de 100 cc., en y ajoutant l'eau de lavage de la capsule et du filtre. On termine l'évaporation et la dessication dans une étuve à 105°. On pèse la fiole; l'augmentation de poids multiplié par 0,26168, donne le poids d'azote correspondant. On transforme ensuite en matières albuminoïdes en multipliant le poids d'azote obtenu par le coefficient 6,36.

b) **Dosage de la dextrine.** — Nous avons employé le procédé suivant, basé sur la précipitation des matières dextrinoformes par l'alcool.

Mode opératoire. — On dissout 10 gr. de miel dans quelques centimètres cubes d'eau distillée au bain-marie et on verse goutte à goutte le miel ainsi fluidifié dans une fiole contenant 100 cc. d'alcool à 95°. Cette quantité est suffisante pour précipiter totalement les dextrines du miel; on s'assurera toutefois qu'il n'y a plus de précipité en ajoutant un peu d'alcool.

On abandonne au repos 24 heures et on jette ensuite sur un filtre pour recueillir la dextrine et les autres substances précipitables par l'alcool (matières albuminoïdes...). On lave avec 10 cc. d'alcool absolu et on dissout le précipité au moyen du jet d'eau chaude d'une pissette.

On ne peut doser directement la dextrine en la précipitant à nouveau par l'alcool et en recueillant sur un

filtre taré, car il reste toujours un peu de matière sucrée et on aurait ainsi une erreur par excès.

On évapore la solution de dextrine contenue dans une capsule tarée, au BM d'abord, puis dans une étuve de Gay-Lussac à 90°. Lorsque deux pesées successives sont identiques, on retire de l'étuve.

On a ainsi un poids P de dextrine et de sucres. On dissout ensuite le tout au moyen d'eau distillée chaude, de façon à avoir environ 40 cc. de liquide. On fait passer dans une fiole jaugée de 50 cc., on ajoute V gouttes de HCl et on porte au bain-marie pour invertir le saccharose (voir méthodes p. 23).

On complète à 50 cc., avec les eaux de lavage de la capsule et on dose les sucres réducteurs au moyen de 5 cc. de liqueur de Fehling, en ajoutant au préalable dans le vase où se fait la réaction, quelques centimètres cubes de lessive de soude. On a alors, en faisant les calculs, le poids *p* des sucres réducteurs.

La différence P — p, donne la quantité de dextrine contenue dans 10 gr. de miel.

c) **Dosage de l'eau**. — On verse 10 gr. de miel dans une capsule tarée avec un petit agitateur en verre, quelques grammes de pierre ponce calcinée ou de verre pilé, ou de sable lavé et calciné. On divise la matière sucrée au moyen de l'agitateur et on porte le tout à l'étuve, à 70-80°, jusqu'à poids constant. L'augmentation de poids de la capsule multipliée par 10, donne la quantité d'eau contenue dans 100 gr. de miel.

Autre procédé. — On pourrait également employer le procédé adopté par la Société suisse de chimie analy-

tique (1). Pour cela : on dissoudrait 10 gr. de miel dans une quantité suffisante d'eau pour obtenir 50 cc. ; on prélèverait 5 cc. de cette solution que l'on verserait dans une capsule plate tarée, contenant du sable ou de la poudre de verre ; on évaporerait au bain-marie en consistance sirupeuse, puis on dessécherait pendant 16 heures à l'étuve.

Connaissant d'une part, le poids de miel qu'on a dissous et le volume qu'on en a fait; d'autre part, sachant que du volume qu'on a pris de cette liqueur, on y rapporte le poids de miel qui y est contenu, on calcule l'humidité pour cent.

Il serait préférable de substituer à ces deux procédés une méthode basée sur la dessication dans le vide, à la température de 60-70°, pendant 24 à 48 heures, pour éviter toute altération des produits sucrés (2). Toutefois, l'emploi de l'étuve donne des résultats satisfaisants dans la pratique, surtout dans le cas d'analyses comparatives.

d) **Dosage de l'acidité.** — On dissout 20 cc. de miel dans 50 cc. d'eau distillée environ, on filtre, on lave le filtre avec 20 cc. d'eau tiède et on titre en présence de phtaléine du phénol au moyen d'une solution $\frac{N}{20}$ de potasse.

Dans le cas de miels colorés, il sera utile de décolorer la solution au noir animal si l'on veut voir nettement le virage.

Chaque centimètre cube de $KOH \frac{N}{20}$, correspond à

(1) *Pharm. Zeitung.* xxxix, p. 198, 1891.

(2) Chutt et Charron. *Chemical News*, 1903. 87 (195-196), (210-212).

0,0023 d'acide formique, l'acidité étant généralement évaluée par rapport à cet acide.

Remarques. — K. Farnsteiner (1) propose d'évaluer provisoirement les acides fixes du miel en ac. malique et de calculer le degré d'acidité en centimètres cubes normaux pour 100 gr. de miel. Nous avons en effet constaté qu'en portant à l'ébullition pendant 10 minutes une solution de miel, ou en laissant un miel une heure à l'étuve à 100°, on obtient une différence avec le premier essai en faisant un nouveau titrage acidimétrique.

e) **Dosage et examen des cendres.** — *Dosage total des cendres.* — On pèse 10 gr. de miel dans une capsule de platine tarée, on chauffe très doucement au début pour éviter à la masse qui se boursoufle, de passer par dessus les bords.

Lorsque la plus grande partie de l'eau est évaporée, que le miel a l'aspect d'un sirop épais, on carbonise à la température la plus basse possible. On épuise alors le charbon à l'aide d'eau bouillante, on filtre sur un filtre sans cendres que l'on met ensuite dans la capsule et on continue l'incinération.

Lorsque toute trace de charbon a disparu, on arrête le feu, on laisse refroidir la capsule et on y verse ensuite la solution aqueuse. On évapore au bain-marie et on porte au rouge sombre ensuite. On laisse refroidir dans un dessicateur et on pèse.

Examen des cendres. — Sur les cendres obtenues on fait un examen qualitatif et quantitatif en appliquant les méthodes employées en analyse (Voir p. 45, résultats de l'examen des cendres.

(1) *Z. Untersuch, Nahr, u. g. Mittel*, 1898, xv, 598-604.

Nos	ORIGINE	EXAMEN organoleptique		Examen Microscopique	EXAMEN SACCHARIMÉTRIQUE							EXAMEN CHIMIQUE					
					Déviation saccharimétrique				Sucres réducteurs °/o		Saccharose °/o	Azote °/o	Dextrine °/o	Cendres °/o	Eau °/o	Acidité °/o	Dérivés du Furfurol
		Couleur	Solution au 1/10	Pollen	Av. I	Température	Ap. I	Température	Av. I	Ap. I							
1	Bretagne	roux	marron	présence	— 12°2	13°	— 13°	13°	73.52	74.62	1.04	0.156	0.42	0.208	20.78	0.14	négatif
2	Id.	—	—	—	— 12.4	13°	— 12.9	13°	74.07	75.18	0.52	0.203	0.77	0.314	21	0.15	—
3	Id.	—	—	—	— 11.3	14°	— 13.3	14°	68.49	69.73	1.17	0.122	0.86	0.28	25	0.8	—
4	Id.	—	—	—	— 11	14°	— 11.2	14°	69.44	69.68	0.22	0.21	0.98	0.27	25.1	0.13	—
5	Id.	—	—	—	— 10 4	16°	— 10.8	16°	70.42	70.91	0.46	0 20	0.30	0.25	25.3	0.12	—
6	Id.	—	—	—	— 10	16°	— 10.1	16°	70.42	70.54	0.11	0.252	0.50	0.32	25.2	0.15	—
7	Id.	—	—	—	— 10.5	16°	— 10.6	16°	71.42	71.57	0.14	0.231	0.83	0.25	24.9	0.9	—
8	Id.	—	—	—	— 8.2	20°	— 8.9	20°	67.56	68.49	0.88	0.197	1.44	0.17	24.5	0.8	—
9	Id.	—	—	—	— 10.9	13°	— 11.7	13°	71.42	72.46	0.99	0.231	0.55	0.33	23.25	0.13	—
10	Id.	—	—	—	— 12	13°	— 12.9	13°	73.52	74.62	1.04	0.255	»	0.39	22.50	0.15	—
11	Id.	—	—	—	— 10	15°	— 10.1	14°	71.42	71.42	0	0.196	0.95	0.28	22.75	0.11	—
12	Landes	—	—	—	— 15	25°	— 15.3	25°	67.11	67.56	0.42	0.253	1.09	0.40	24.7	0.105	—
13	Id.	—	—	—	— 15.2	18°	—16.83	18°	77	78.9	1.80	0.14	1.11	0.30	18.73	0.19	—
14	Id.	—	—	—	— 16.4	18°	— 17	18°	78 9	78.9	0.48	0.098	1.22	0.238	18.15	0.16	—
15	Id.	jaune foncé	jaune	—	— 8.3	19°	— 8.8	19°	75.6	76.2	1.04	0.168	0.98	0.28	21.91	0.13	—
16	Id.	—	—	—	— 15.5	19°	—17.16	19°	75.7	77.80	1.99	0.121	0.174	0.32	20.8	0.21	—
17	Cévennes	blond	—	—	— 11 1	14°	— 12.1	14°	74.07	75.18	1.04	0.057	»	0.22	18.60	0.11	—
18	Id.	—	jaune paille	—	— 11.2	14°	— 13.5	14°	73 52	74.07	0.52	0.054	»	0.218	18.58	0.8	—
19	Id.	—	opalescente	—	— 9.9	14°	— 10.9	14°	75.7	76.10	0.98	0.047	0.39	0.196	20.70	0.064	—
20	Id.	—	—	—	— 11.5	14°	— 13.4	14°	72.15	74 07	1.82	0.072	»	0.219	21.82	0.103	—

21	Id.	jaune foncé	—	—	— 9°4	16°	— 13°5	14°	74.46	76.33	3.67	0.039	»	0.099	18.8	0.059	—
22	Id.	blond	—	—	— 3.9	17°	— 8.7	17°	68.95	74.62	5.37	0.017	0.22	0.016	18.28	0.041	—
23	Id.	blond foncé	blonde	—	— 5.5	17°	— 7.5	17°	70.92	73.52	2.20	0.038	0.13	0.326	18.47	0.096	—
24	Alpes	blanc	légér. opales.	—	— 0.3	15°	— 12 2	15°	67	79.10	11.49	0.018	0.58	0.03	15.8	0.04	—
25	Id.	blond clair	—	—	— 2	16°	—12.55	16°	68.49	80.87	11.76	0.025	0.45	0 01	17	0.06	—
26	Id.	blanc	opalescente	—	— 4.5	16°	—11.99	16°	74	83.27	8.80	0.014	0.14	0.028	15.8	0.05	—
27	Id.	blond clair	légér. opales.	—	— 7.3	16°	— 9.24	16°	76.92	79.33	2.28	0.048	0.35	0.08	17.4	0.10	—
28	Id.	blond	opalescente	—	— 7	15°	— 9.24	15°	76.5	78.1	1.52	0 048	0.19	0.095	17.6	0.10	—
29	Id.	—	—	—	— 7	16°	— 9	16°	75.75	77.46	1.62	0.06	0.18	0 138	20.8	0.12	—
30	Id.	blanc	—	—	— 7.7	15°	— 9.57	15°	75.80	79.2	3.23	0.04	1.30	0.12	19	0.09	—
31	Id.	—	légér. opales.	—	— 7.8	16°	—12.21	16°	75.75	79.7	3.75	0.042	0.15	0.155	18.21	0.09	—
32	Gâtinais	blond	—	—	— 6	25°	— 9.8	25°	69.44	74.62	4.92	0 039	0.29	0.07	23.6	0.059	—
33	Id.	blanc	opalescente	—	— 4.9	22°	—11.5	22°	69.14	76.92	7.10	0.041	0.57	0.045	20	0.032	—
34	Id.	blond	—	—	— 8.1	20°	— 8.5	20°	71.42	73.52	2	0.023	0.56	0.136	23.49	0.075	—
35	Id.	blanc	—	—	— 9 1	23°	—10.9	23°	76.33	77.51	1.12	0.022	0.53	0.039	18.99	0.052	—
36	Id.	—	—	—	— 4.8	18°	—11	18°	65.78	74.07	7.88	0.03	0.27	0.015	20.20	0.059	—
37	Id.	—	—	—	— 2.6	17°	— 8.9	17°	75.78	72.46	6.35	0.042	0.83	0.04	20.95	0.075	—
38	Seine-et-Oise	blond clair	légér. opales.	—	— 9 3	14°	—12.1	14°	72.46	75.75	3.12	0.093	0.17	0.21	20.12	0.10	—
39	Id.	jaune	jaunâtre	—	— 9.5	20°	—12.4	20°	72.46	74.9	2.31	0.05	0.048	0.17	18.55	0 095	—
40	Id.	—	—	—	— 9.6	24°	—11.22	24°	73.52	74.84	1.25	0.062	0.095	0.03	19 39	0.08	—
41	Id.	—	opalescente	—	— 9.2	24°	—12.65	24°	72.23	75.67	3.26	0.066	0.27	0 05	20 82	0.13	—
42	Id.	blond clair	légér. opales.	—	— 9	17°	—14.5	17°	64.93	71.42	6.16	0.043	traces	0.026	22.38	0.05	—
43	Id	blond	opalescente	—	— 5.4	15°	—11.33	15°	72.46	77.9	5.22	0.02	0.49	0.025	15.65	0.07	—
44	Bourgogne	jaune	jaunâtre	—	— 1.6	21°	— 8.8	21°	70.5	77 5	6.65	0.085	0.37	0.23	18.3	0.06	—
45	Id.	blanc	opalescente	—	— 11.5	14°	—11.5	14°	75.75	77.51	1.67	0 088	0.18	0.09	22.22	0.09	—
46	Aube	—	—	—	— 10	18°	—12 1	18°	74.62	76.92	2.18	0.097	0.44	0.08	17.10	0.075	—
47	Allier	blond	—	—	— 5	18°	— 8 9	18°	71.42	76.92	5.22	0.12	1.28	0.01	15.65	0.124	—
48	Saône-et Loire	blanc	légér. opales.	—	— 2	17°	—11.5	17°	65.78	74.01	7 81	0.083	traces	0.07	24.4	0.034	—
49	Orne (Ge Trappe)	jaune	opalescente	—	— 5.2	17°	— 8.92	17°	72.7	75.64	2.79	0.041	0.48	0 04	18.23	0.07	—
50	Orne (id.) (2e récolte)	—	—	—	— 4.79	17°	—10.5	18°	70.17	75.3	4.86	0.039	0.55	0.02	22.61	0.09	—

Les résultats obtenus dans les tableaux ci-dessus, peuvent être interprétés de la façon suivante :

Examen organoleptique. — La couleur, la consistance, l'odeur et la saveur des miels sont particulières à chaque région et dépendent des plantes sur lesquelles vont butiner les abeilles. C'est ainsi que les miels de Bretagne et des Landes qui proviennent du nectar des fleurs de bruyère et de sarrazin sont marrons, parfois rouges ; les miels du Gâtinais, de Seine-et-Oise, récoltés sur des fleurs de sainfoin, de mélilot, sont blancs ou légèrement jaunes.

L'odeur de ces mêmes plantes se retrouve dans le miel et, de cette dernière particularité, jointe à la saveur propre à chaque miel, dépendent souvent les variétés commerciales.

Examen microscopique. — L'examen microscopique nous a révélé la présence d'un peu de cire (miels de Bretagne et des Landes surtout) et de pollen provenant des fleurs visitées par les abeilles.

Grâce à ce pollen aux formes multiples, nous avons pu constater que les échantillons n°s 32, 33, 34, 35, 36, 37, renfermaient du pollen de sainfoin, de mélilot, d'acacia. Les n°s 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 du pollen de labiées ; les n°s 1, 2, 3, 4, 5 du pollen de bruyère, de trèfle ; les n°s 38, 39, 40, du pollen de tilleul, de labiées, de mélilot.

Examen saccharimétrique. — *Déviations saccharimétriques.* — Les déviations des miels étudiés ont été

faites au tube de 2 dcm. et à une température qui a été notée. Pour tous les échantillons examinés, la déviation avant inversion a été lévogyre et a varié :

Pour les miels de Bretagne : avant inversion entre — 8°,3 et — 12°4 et après inversion entre — 8°,9 et — 13°,3.

Pour les miels des Landes : avant inversion entre — 8°,3 et — 16°,4 et après inversion entre 8°,8 et — 17°,6.

Pour les miels des Cévennes : avant inversion, entre — 3°,9 et — 11°,5 et après inversion entre — 7°,5 et — 13°,5.

Pour les miels des Alpes : avant inversion, entre — 0°,3 et — 7°,8 et après inversion entre — 9° et — 12°,5.

Sucres réducteurs avant inversion. — La teneur oscille entre 67 °/₀ et 78 °/₀, avec une moyenne de 70 °/₀.

Saccharose. — La teneur moyenne varie pour les miels de Bretagne entre 0 gr. 22 et 1 gr. 17. Le n° 11 n'en contenait pas.

Pour les miels des Landes, entre 0 gr. 42 et 1 gr. 99.

Pour les miels du Gâtinais entre 1 gr. 12 et 7 gr. 88.

Et pour les miels des Alpes entre 1 gr. 52 et 11 gr. 76.

Examen chimique. — *Azote total et matières protéiques.* — Nous avons dosé l'azote total sur tous les miels examinés, après séparation du pollen. Celui-ci, en effet, contient de petites quantités de matières azotées que nous avons évalué sur du pollen de conifère (cèdre, du Liban) et sur les spores du lycopode (lycopodium clavatum). Nous avons trouvé, pour le pollen du cèdre une moyenne de 1,68 °/₀ d'azote et pour les spores du lycopode 1,72 °/₀.

Les quantités d'azote des miels varient avec leur origine :

C'est ainsi que pour les miels de Bretagne, on trouve une moyenne de 0 gr. 20 °/₀ d'azote et pour les miels du Gâtinais, de Seine-et-Oise, une teneur de 0 gr. 04 °/₀.

Nous donnons dans le tableau suivant les résultats obtenus sur certains miels : en matières albuminoïdes coagulables par la chaleur en serine et en globuline.

NUMÉROS	MAT. ALBUMIN. COAG. P. CHAL. °/₀	MAT. ALBUMIN. TOTALES °/₀	AZOTE TOTAL °/₀	ALB. PROP. DITE OU SERINE ?	GLOBULINE
1	0.72	0.99	0.156	0.09	0.63
2	1.10	1.38	0.203	0.58	0.52
4	1.14	1.33	0.21	0.39	0.75
6	1.05	1.50	0.25	0.13	0 92
8	0.98	1.20	0.197	»	»
17	0.29	0.36	0.057	»	»
20	0.38	0.46	0.072	»	»
38	0.52	0.59	0.093	»	»
40	0.39	0.40	0.062	»	»
41	0.37	0.41	0.066	0.35	traces
44	0.51	0.54	0.085	0.45	0.09
45	0.42	0.56	0.088	0.25	0.17
46	0.55	0.61	0.097	0.31	0.24
47	0.76	0.78	0.12	0.35	0 41
49	0.20	0.26	0.041	0.18	traces

On voit que : 1) en transformant l'azote total en matières albuminoïdes, et cela en multipliant le poids d'azote par le coefficient 6,36, on a une légère différence

due probablement aux matières albuminoïdes de transformation (albuminoses et peptones ?).

2) que les quantités d'albumine (sérine) et de globuline sont variables ; tantôt, la sérine est en excès par rapport à la globuline, tantôt aussi, c'est le contraire.

Dextrine. — Nous avons trouvé de la dextrine dans tous les miels examinés et en plus fortes proportions dans les miels des Landes : 1 gr. 04 °/₀ à 1 gr. 99 °/₀ ; elle ne se colore pas au contact de la liqueur iodo iodurée.

Cendres. — Le poids de cendres trouvé varie, suivant l'origine des miels et leur mode d'extraction. Toutefois, pour un miel normal, ce poids ne dépasse pas 0,40 °/₀.

Les miels blancs n°s 30, 31, 33, 35, etc., nous ont donné des résultats variant entre 0 gr. 01 °/₀ et 0 gr. 08 °/₀.

Les miels blonds n°s 17, 18, 19, 38... etc., entre 0,07 et 0,32 et les miels roux qui sont ordinairement d'extraction grossière, entre 0,17 et 0,40 °/₀.

Dans les cendres des miels étudiés au point de vue qualitatif, nous avons trouvé :

1) Des cendres alcalines au tournesol et à la phtaléine de phénol.

2) Des sulfates, des phosphates, des chlorures, du calcium et du sodium.

3) Dans certains cas des nitrates (n°s 4 et 40) et du fer (n°s 1, 2, 6, 7, 12, 13, 15, 39).

Nous avons fait l'examen des sulfates, phosphates, du calcium, du fer et des nitrates, directement sur les cendres. Dans le cas de présence du fer, les cendres étaient jaunes, parfois vertes.

Chlorures. — Nous avons recherché les chlorures en

traitant le charbon refroidi et pulvérisé par de l'eau. Le précipité donné par l'azotate d'argent en présence d'acide azotique n'est pas visible, aussi nous avons eu recours au réactif de M. A. Villiers (1) fondé sur l'action du chlore sur une solution d'aniline et d'ortholuidine.

Mode opératoire. — Nous avons ajouté à 10 cc. de solution de chlorure provenant du charbon de 10 gr. de miel : 5 cc. d'un mélange à volumes égaux d'acide sulfurique et d'eau et 10 cc. d'une solution saturée de permanganate de potasse ; le tout contenu dans le ballon d'un petit appareil à distiller. Nous avons chauffé doucement en recueillant le gaz dans 5 cc. du réactif contenu dans un tube à essai plongeant dans l'eau froide. Nous avons obtenu des teintes, variant du rose faible au rouge, teintes correspondant à 0,001 de HCl (2).

Dosage des phosphates. — Pour les doser nous avons charbonné 10 gr. de miel dans un creuset couvert, et à aussi basse température que possible. Après refroidissement, nous avons pulvérisé la masse obtenue, nous l'avons arrosée avec un lait de chaux contenant environ 0 gr. 05 de chaux (CaO), évaporé à sec et calciné. Nous avons repris le résidu par 20 cc. d'eau, contenant 3 gouttes d'acide azotique, filtré et titré au nitrate d'urane.

Les analyses ainsi conduites sur les n°s 5, 6, 7, 15, 27, 35, 38, 39, 40, 44, 48, 49, 50, nous ont donné des résultats variant entre 0,01 et 0,02 °/₀ exprimés en P^2O^5.

(1) Prés. du réactif : Sol. aq. saturée d'aniline incolore.......... 100 cc.
— — orthotoluidine................ 20 cc.
— Ac. acétique crist.......................... 30 cc.

(2) *Tabl. d'anlyse qual.* A. Villiers, 4e éd. (p. 147).

Eau. — La quantité d'eau dépasse rarement 24 °/₀. On peut donc prendre une teneur de 25 °/₀ comme un maximum pour des miels naturels.

Acidité. — L'acidité exprimée en acide formique est faible et reste entre 0 gr. 03 et 0,13 °/₀. Pour certains miels des Landes, nous avons trouvé une teneur un peu supérieure, 0,10 °/₀ à 0,21 °/₀.

5. **Examen biologique.**

Nous avons vu (page 13) que le saccharose du nectar est transformé dans le jabot de l'abeille en sucre interverti, grâce à un ferment spécial nommé invertine. Ce ferment, ainsi que le ferment amylolitique de l'abeille se retrouve dans le miel ainsi que nous allons le voir.

Déjà Dubrunfaut, constatait qu'après un certain temps, le saccharose disparaissait dans le miel.

En 1910, Auzinger (1) constata, dans les miels qu'il examina la présence d'amylase et de catalase et l'absence de peroxydases.

Nous avons repris cette question des ferments du miel et dans ce chapitre, nous caractériserons la présence de l'amylase, de l'invertine et de la catalase dans les miels français. Nous donnons les principales propriétés de ces ferments et après avoir déterminé les conditions optimum d'acidité, nous indiquons la méthode pour les rechercher et les doser dans les miels, et nous donnons les résultats de nos analyses dans un tableau placé à la fin.

(1) *Zeits. f., Untersuchung der Nahrungs und genusmittel*, 1910, p. 65 et 353.

Isolement des ferments. — Pour isoler les ferments du miel, différentes méthodes peuvent être employées.

C'est ainsi que l'on pourrait produire dans le miel mis en solution un précipité de phosphate de chaux, qui en se précipitant entraînerait par un véritable collage les diastases présentes (méthode Cohnheim). Mais étant donné la faible quantité de ferments dans le produit examiné, nous n'avons pas obtenu d'aussi bons résultats qu'avec la méthode suivante basée sur la précipitation des ferments par l'alcool ;

On dissout le miel dans le moins d'eau possible (quelques centimètres cubes), en s'aidant au besoin de la douce température d'un bain-marie. On verse ensuite goutte à goutte le miel ainsi fluidifié dans dix fois son poids d'alcool absolu. On précipite ainsi les ferments, les matières albuminoïdes et un peu de sucre. On centrifuge et on décante ensuite le liquide clair surnageant (le précipité adhérant généralement aux parois du vase). On reprend par 10 cc. d'eau distillée et la solution trouble obtenue est filtrée, pour séparer les matières albuminoïdes insolubles dans l'eau, le pollen..., etc. On rince finalement le filtre avec un peu d'eau distillée. On a ainsi une solution limpide de ferment,

Propriétés des ferments obtenus. — Si on réduit la solution aqueuse de ferments jusqu'à un volume de quelques centimètres cubes, qu'on reprécipite ces ferments en versant la solution concentrée dans 100 cc. d'alcool absolu, on obtient un précipité, présentant les caractères d'une poudre blanche, sans forme cristalline quand on l'examine au microscope. Si on décante à

nouveau l'alcool et si on reprend par quelques centimètres cubes d'eau le précipité adhérant aux parois du tube à centrifuger, on constate qu'il se dissout immédiatement.

Nous avons ensuite recherché à quels ferments nous avions à faire.

a) Recherche de l'amylase. — Nous avons ajouté à 100 cc. d'une solution de ferment (provenant de 10 gr. de miel), 1 cc. d'empois d'amidon à 1 % (1). Nous avons prélevé 1 cc. du mélange pour y verser une goutte de solution iodo-iodurée (2) ; nous avons eu une solution bleue tenant en suspension de fines granulations de grains d'amidon gonflés. Nous avons alors mis la solution à étudier dans une étuve réglée à 50-60°. Après cinq minutes, en répétant l'essai précédent avec la liqueur d'iode, nous avons encore obtenu une coloration bleue, mais une disparition des grains d'amidon. Enfin, en répétant ces essais, toutes les cinq minutes, il s'est formé toute une série de teintes : violet, lie de vin, rose, acajou, et finalement jaune pâle, indice de la disparition d'amidon.

Il se produit dans ces diverses réactions une saccharification plus ou moins complexe de l'amidon, saccha-

(1) Préparation de l'empois d'amidon. — On mesure 100 cc. d'eau distillée ; on en prélève quelques centimètres cubes pour délayer 1 gr. de fécule de pomme de terre. On porte le reste de l'eau à l'ébullition et on y fait tomber la suspension d'amidon en agitant constamment. On laisse refroidir et on complète à 100 cc.

(2) Préparation de la liqueur d'iode. — On triture dans un mortier de verre 0 gr. 5 de KI et 1 gr. d'I, avec quelques centimètres cubes d'eau distillée. On ajoute ensuite peu à peu 70 cc. d'eau environ. On verse la solution dans un vase jaugé à 100 cc. et on complète à 100 cc. avec l'eau de lavage du mortier.

rification qui a fait l'objet de nombreuses théories que nous n'avons pas à faire rentrer dans le présent travail.

Disons toutefois que d'après Lintner (1) et pour l'amylase du malt, il se forme cinq corps : trois dextrines :

Amylodextrine, érythrodextrine, achrodextrine, et deux sucres : isomaltose et maltose.

b) Recherche de l'invertine. — Nous avons opéré de même en remplaçant l'empois par une solution de saccharose à 0,50 pour 10 cc. et en mettant à l'étuve à 30°. En faisant un titrage au Fehling avant la mise en marche et un second après un abandon de plusieurs jours, on constate que la quantité de sucres réducteurs a augmenté ; il s'est formé en effet du sucre interverti.

Conditions favorables d'activité des diastases. — L'intensité des réactions diastasiques que nous venons de voir est très fortement influencée par les conditions physiques et chimiques de l'expérience ; ces conditions d'activité, varient en effet avec la température, la réaction du milieu, l'oxygène, la lumière. Enfin, à côté de ces influences d'ordre physique et chimique, elles varient avec le *temps* et les *quantités* de diastases mises en œuvre.

Influence de la température sur l'amylase. — En faisant agir pendant un même temps de l'amylase de miel sur de l'empois d'amidon, à des températures comprises entre 0 et 100°, il se produit des variations importantes dans la réaction.

On trouve, en effet, deux périodes principales : une

(1) Lintner, *D. Chemg.*, 26, 2533.

première pendant laquelle l'action diastasique, de très faible qu'elle était à de très basses températures, va en croissant de plus en plus rapidement, pour atteindre un maximum : c'est la température *optimum*. Une seconde période à partir de cette température optimum où il y a par contre décroissance de l'activité diastasique jusqu'à une température particulière, où le ferment est détruit et où l'action s'arrête : c'est la température *mortelle*.

La température optimum n'a pas été très facile à déterminer; toutefois, après quelques tâtonnements, nous avons remarqué que en opérant toujours dans les mêmes conditions, la température la plus favorable à l'activité de la diastase varie entre 40 et 50° et la température mortelle autour de 85°

Influence de la réaction du milieu sur l'activité de l'amylase. — Kjeldhal (1) avait remarqué que « si l'on ajoute de faibles quantités d'acide à une solution de saccharose additionnée d'invertine, l'inversion se trouve activée ; si l'on en ajoute davantage, on obient bientôt une proportion pour laquelle l'action de l'invertine est ralentie ; pour une proportion plus forte, l'action est de nouveau augmentée. Mais ce dernier effet doit être rapporté à l'acide qui intervertit par lui-même le sucre de canne, alors que les deux premiers sont le résultat de l'influence d'abord activante, puis affaiblissante qu'ils exercent sur l'invertine.

O. Sullivan, Thompson, étudièrent de l'acide sulfurique, en présence de l'invertine.

(1) Kjeldhal, Nogle Jagttagelser over invertin (*Merd. fra Carisbory-Laborat*, I, 1881, p. 331.

Fernbach, celle de l'acide oxalique, tartrique succinique, lactique, acétique.

MM. Maquenne et Roux (1), recherchèrent « la grandeur que doit avoir l'acidité ou l'alcalinité du mélange, pour que la vitesse de saccharification, dans l'action de l'amylase sur l'empois d'amidon y atteigne sa valeur maxima. » Ils arrivèrent ainsi à faire en moins d'une heure des saccharifications qui auraient exigé plusieurs jours.

En présence des faibles quantités de ferments contenus dans le miel, il était de première importance de surexciter en quelque sorte leur activité ; la solution des ferments du miel étant légèrement acide, pour opérer toujours dans les mêmes conditions, nous avons neutralisé au moyen de NaOH $\frac{N}{10}$, et après de nombreux essais comparatifs, nous avons trouvé qu'il faut ajouter 1 cc. 5 d'une solution titrée d'acide formique à 1 °/₀ pour être dans les conditions optimum d'acidité.

Action de l'oxygène et de la lumière. — Parmi les influences d'ordre chimique agissant sur les diastases, il y a lieu de signaler l'action de l'oxygène à laquelle les diastases sont sensibles : « Il y a affaiblissement, elles semblent apparaître comme des corps oxydables dont l'oxydation a pour effet d'atténuer ou même de détruire le pouvoir diastasique (2).

Enfin, la lumière produit comme l'oxygène un phéno-

(1) Maquenne et Roux, *C. R. A. S.*, t. CXLII, p. 124.

(2) Wurtz, *Dict.*, Supp. art. *Diastases*, p. 60.

mène néfaste sur l'activité des diastases et en particulier des diastases en solution.

Aussi, si l'on ne veut pas leur voir subir rapidement une perte notable d'activité, on aura avantage à opérer avec des fioles aussi remplies que possibles, bien bouchées, en verre jaune ou enveloppées de papier.

Action du temps. — Si l'on fait agir une diastase à la température optima, on constate que la quantité de matière transformée est proportionnelle au temps, ou si l'on fait varier la quantité de diastase, on constate qu'au bout du même temps, la quantité de matière transformée est proportionnelle à la quantité de diastase. »

C'est ce qu'on exprime dans une formule unique : « les quantités de diastases nécessaires pour transformer une même quantité de matière sont inversement proportionnelles aux temps pendant lesquels elles agissent. »

On pourra donc doser, sinon la quantité des diastases du miel, mais du moins comparer la richesse diastasique de ces produits sucrés, en dosant la quantité de matière transformée (saccharose amidon), en opérant toujours dans les mêmes conditions de temps.

Application des notions précédentes à l'analyse biologique.

Ces considérations générales étant faites, pour rechercher :

1° Si un miel contient de l'amylase et de l'invertine ;

2° En quelles proportions.

On procédera de la façon suivante :

1° Recherche de l'amylase. — Cet essai qualitatif

peut se faire directement sur le miel mis en solution ou sur le ferment isolé.

α) *Directement sur le miel.* — On dissout 10 gr. de miel dans 10 cc. d'eau distillée ; on divise la solution après filtration en deux parties égales dont l'une est portée à l'ébullition et servira de témoin. Chacun des deux liquides est mis dans un tube à essai et additionné de 1 cc. d'empois d'amidon à 1 °/₀ et de 1 cc. 5 d'une solution d'acide formique à 1 °/₀ après neutralisation de la solution du miel au moyen de NaOH $\frac{N}{10}$. On agite et on abandonne à 45°, pendant un temps variable (de 15 minutes à une demi-heure). On prélève dans chacun des deux tubes, des quantités aliquotes qu'on examine avec la solution iodo-iodurée en notant les teintes obtenues.

β) *Sur le ferment isolé.* — On précipite le ferment selon la méthode donnée (p. 48) ; on le met en solution dans 20 cc. d'eau distillée, on divise la liqueur en deux parties égales et on continue comme précédemment.

On opérant ainsi, les teintes obtenues avec l'iode sont beaucoup plus nettes.

2° Dosage de l'amylase. — On pourrait croire que le polarimètre peut donner des renseignements rapides, car les dextrines possèdent un pouvoir rotatoire très élevé, beaucoup plus fort que celui du maltose : en conséquence, en supposant que les dextrines aient toutes le même pouvoir rotatoire, il suffirait semble-t-il de précipiter les dextrines par l'alcool, les reprendre par l'eau et de faire un examen polarimétrique. Comme tous les miels renferment des dextrines (Voir tableaux, p. 41 et suiv.), un dosage préalable de ces dernières donnerait

par différence la quantité de dextrines produites par l'effet de la diastase. Mais pratiquement, on ne peut avoir recours à cette méthode.

Il est nécessaire que la liquéfaction de l'empois soit complète pour faire l'examen polarimétrique ; en attendant plus longtemps, on aura sans doute un liquide clair, mais à ce moment, la saccharification est très avancée et on n'obtient que des déviations polarimétriques difficilement mesurables.

Le procédé de choix sera celui fondé sur le dosage des sucres réducteurs formés :

Dans nos analyses, nous avons opéré sur les ferments isolés de 20 gr. de miel ; nous avons divisé la solution de ferments en deux parties égales dans deux vases jaugés A et B de 100 cc. (B porté à l'ébullition sert de témoin). Nous avons ajouté après neutralisation 1 cc. 5 de solution d'acide formique à 1 °/₀, 50 cc. d'un empois correspondant à 0 gr. 25 de fécule de pomme de terre et complété à 100 cc. avec de l'eau distillée bouillie et refroidie. La précipitation alcoolique entraînant toujours un peu de matière sucrée, nous avons, avant la mise en marche, fait un dosage à la liqueur de Fehling, en prélevant 5 cc. de solution étendue à 25 cc. avec de l'eau distillée.

D'autre part, afin d'arrêter le développement des microorganismes, nous avons ajouté V gouttes de toluène, nous avons bouché fortement les fioles, nous les avons enveloppées de papier pour éviter l'action de la lumière et nous avons abandonné le tout 24 heures dans une étuve réglée à 45°-50°.

Après 24 heures, nous avons dosé les sucres réducteurs formés par un nouveau titrage au Fehling.

La différence des résultats nous a indiqué la quantité de sucres réducteurs formés.

En rapportant les résultats à 100 gr. de miel et en tenant compte des dilutions, les analyses ainsi conduites nous ont donné les résultats exprimés en grammes de sucres réducteurs formés dans le tableau de la page 60.

Recherche et dosage de l'invertine. — Comme pour l'amylase, on pourra faire l'essai soit directement sur le miel, soit en isolant le ferment.

La présence de l'invertine étant manifestée par l'inversion du saccharose, il faudra nécessairement, pour se rendre compte de la réaction, faire un dosage du sucre interverti ; de sorte que l'essai qualitatif devient un essai quantitatif.

α) *Dosage par isolement de l'invertine.* — Nous avons opéré comme pour le dosage de l'amylase, en remplaçant l'empois d'amidon par 5 cc. d'une solution de saccharose à 10 % et en abandonnant quatre jours dans une étuve réglée à 25°-30° (Voir résultats p. 60).

β) *Dosage directement sur le miel.* — On pourrait opérer directement sur le miel, mais les résultats sont beaucoup moins sensibles qu'en pratiquant comme précédemment : on dissout 20 gr. de miel dans 100 cc. d'eau environ, on filtre et on complète à 200 cc. avec de l'eau distillée après avoir neutralisé et ajouté 3 cc. de la solution d'acide formique à 1 % et 1 gr. de saccharose préalablement dissous dans un peu d'eau. On divise la solution en deux parties égales dans deux fioles A et B jaugées de 100-110 cc. On dose ensuite les sucres réducteurs de la fiole A. Pour cela, on ajoute V gouttes de S. Ac. de Pb., on complète à 110 cc. et on mélange. On

ajoute ensuite 0 gr. 50 de charbon, on agite et on filtre. On prélève enfin 10 cc. du liquide filtré incolore que l'on étend à 100 cc. et on examine au Fehling, en se servant de 10 cc. de liqueur titrée. On a ainsi les sucres réducteurs avant la mise en marche.

D'autre part, on met la fiole B, additionnée de V gouttes de toluène dans une étuve réglée à 25-30° pendant quatre jours et pour titrer les sucres réducteurs formés après ce temps, on refait la même opération que précédemment.

La différence entre les sucres réducteurs du flacon B et du flacon A représente la quantité de sucre interverti formé.

Recherche des oxydases. — La présence des ferments (amylase-invertine) étant constatée, il était permis de se demander, si à côté de ces enzymes, il n'y avait pas, comme dans le lait, produit aussi naturel que le miel, des éléments capables de provoquer l'oxydation de corps facilement oxydables : paraphénylène-diamine, gaïacol, hydroquinone, etc., en présence ou non d'eau oxygénée ; en un mot s'il n'y avait pas des anaéroxydases ou des aéroxydases.

Marpmann (1) se basant sur la réaction de Storch, veut distinguer les miels centrifugés des miels chauffés et d'après ses observations, les premiers doivent avoir un effet positif, tandis que les derniers ont un effet négatif, par la réaction à la paraphenyléne-diamine : il ajoute à 10 cc. d'une solution de miel (1-2), X gouttes d'une solution à 1 °/₀ de paraphénylène-diamine, secoue, verse

(1) Marpmann, *Pharm Ztg.*, 1903, 48, 1001.

ensuite quelques gouttes d'eau oxygénée à 3 °/₀ et agite : le miel centrifugé se colore en bleu gris, puis en violet indigo, le miel chauffé ne se colore pas ».

Nous avons refait ces expériences sur des miels français non chauffés et chauffés :

Dans les deux cas, nous avons obtenu après quelques minutes une coloration grenat et non violette comme avec les oxydases du lait cru par exemple.

Nous avons alors essayé de caractériser les aéroxydases et les anaéroxydases avec la teinture de gayac, la benzidine.., etc.

Avec la teinture de gaïac. — Nous avons pris 10 cc. de miel mis en solution (1-2) et nous avons divisé la solution dans deux tubes à essai :

Dans l'un, nous avons ajouté 1 cc. de teinture de gayac fraîchement préparée ;

Dans l'autre, 1 cc. de la même teinture et une goutte d'eau oxygénée à 1 °/₀.

Même après 24 heures, dans les deux cas, nous n'avons obtenu de coloration bleu verdâtre.

En opérant dans les mêmes conditions avec le gaïacol, l'hydroquinone, l'acétate de benzidine, le réactif de Meyer, etc., nous avons eu le même insuccès.

Nous croyons donc pouvoir pouvoir conclure à l'absence d'aéroxydases et d'anaéroxydases.

Catalase. — Cependant, en ajoutant directement l'eau oxygénée dans la solution du miel (1-2) et en mélangeant, nous avons remarqué après quelques minutes un dégagement plus ou moins abondant de bulles d'oxygène. Il est vraisemblable de croire que les corps qui ne provoquent pas l'oxydation de la paraphénylène diamine, de

la benzidine..., etc., en présence de l'eau oxygénée et qui donnent cependant lieu, en présence de ce réactif, à un dégagement d'oxygène inactif, comme l'appelle M. Sarthou (1), sont des catalases.

Dosage de l'oxygène dégagé. — Le dégagement de l'oxygène de la catalase est généralement apprécié, en dosant l'eau oxygénée non décomposée au moyen d une solution de permanganate de potasse (3 gr. 16 pr. 1000) en présence de 1 cc. d'acide sulfurique, d'après la formule :

$$5\,H^2O + 2\,MnO^4K + 3\,SO^4H^2 = 2\,SO^4Mn + SO^4K^2 + 8\,H^2O + 5\,O^2.$$

Mais étant donné la quantité des sucres réducteurs du miel, la teinte rose de la fin, due à l'excès de permanganate de potasse n'est pas stable, aussi, nous avons préféré doser directement le volume d'oxygène dégagé.

Mode opératoire. — On dissout 5 gr. de miel dans 10 cc. d'eau distillée, bouillie et refroidie, on opère de même avec un témoin porté à l'ébullition et on filtre sur un coton serré. Chacune de ces solutions est versée dans une éprouvette à gaz et additionnée de 10 cc. d'eau oxygénée à 12 vol., au dixième, neutre et à la température du laboratoire.

On agite doucement et on porte sur une cuve à mercure. Après 24 heures, on fait la lecture.

Nous avons appliqué les méthodes biologiques décrites précédemment à l'analyse d'un certain nombre de miels dont les résultats sont exposés dans le tableau suivant (2).

(1) M. Sarthou, *J. Ph. et Ch.*, 6e série, t. XXX, p. 350.

(2) Les numéros de la première colonne correspondent aux numéros des miels des tableaux page 40 et 41, où nous donnons les résultats micrographiques, saccharimétriques, chimiques.

Nos	INVERTINE CALCULÉ en S. R. °/o	AMYLASE en S. R. °/o	AMYLASE APRÈS 1/4 D'HEURE		CATALASE — OXYGÈNE DÉGAGÉ après 24 heures
			ÉCHANTILLONS	TÉMOINS	
1	8.55	1.54	jaune rouge	bleu	6 cc. 2
3	8.99	1.35	jaune	violet foncé	5.3
4	9.53	1.54	—	—	4
5	11.17	1.56	—	bleu	2.4
6	11.22	2.40	jaune rouge	bleu violet	6.6
7	11.60	2.73	—	—	5.9
8	12.02	3.68	jaune	violet	5.2
9	12.61	3.88	—	—	4.8
12	4.77	2.29	—	bleu	6.6
13	3.35	3.12	—	violet foncé	4 9
14	3.48	1.89	—	—	6.2
16	4.35	2.26	—	bleu	5.7
19	5.60	3	—	—	3.2
22	4.98	1.31	jaune rouge	—	2.1
25	1.60	»	jaune	violet foncé	0.7
26	3.83	0.60	—	violet	0.3
28	4.46	»	—	bleu violet	0.3
29	4.57	0.74	—	bleu	0.4
31	3.89	»	—	—	0.3
32	1.10	0.70	—	—	0.15
33	1.19	1.45	—	violet foncé	0.3
34	1.95	»	jaune rouge	—	0.15
35	2.35	0.77	jaune	bleu violacé	0.2
36	3.10	1.12	—	bleu	0.4
37	3.31	»	—	—	0.7
38	3.80	»	—	—	0 3
41	4.90	0.82	—	bleu violet	1
42	7.21	1.68	—	bleu	0.90
45	4.26	1.80	jaune rougeâtre	—	1.5
47	6	0.70	jaune	bleu violacé	0.9
49	11.05	1.25	jaune rouge	bleu violet	0.8

Si nous comparons les analyses chimiques et biologiques des miels Nos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 (Miels de Bretagne).

— Nos 12, 13, 14, 16 (Miels des Landes).

— Nos 16, 19, 22, 25, etc. (Miels des Alpes, du Gâtinais, de Seine-et-Oise),

on constate dans les miels de Bretagne une forte proportion d'invertine, et dans ces mêmes miels et ceux des Landes, un abondant dégagement d'oxygène en même temps qu'une teneur élevée en matières azotées.

Dans les miels des Alpes, du Gâtinais, de Seine-et-Oise, etc., les proportions d'invertine et d'amylase sont plus faibles, de même que le dégagement d'oxygène et la teneur en matières azotées.

6. — **Examen bactériologique**

Si l'on considère le nombre et la variété de micro-organismes qui nous entourent, il n'y a rien d'étonnant que nous retrouvions ces germes sur les fleurs, les fruits que nous mangeons (1) et par cela même dans les produits comme le miel, qui nous est fourni par les abeilles.

Or, la matière sucrée puisée dans le nectar des plantes et plus rarement dans la miellée, est un excellent milieu de culture pour certaines levures en attendant qu'elles soient transformées ailleurs, par les insectes et en particulier par les abeilles dans le miel.

Déjà Boutroux (2), avait remarqué que les levures sont nombreuses sur les abeilles et il avait eu l'idée de

(1) A. Sartory et Filassier, *C. R. Soc. Biol.*, mars 1910.

(2) Boutroux, *Soc. Linéenne de Normandie*, 9e S., 1882, p. 98.

les rechercher dans le miel. Cet auteur avait ensemencé dans du moût de raisin stérilisé, un peu de produit retiré d'une alvéole, et il avait réitéré cette opération avec quatre alvéoles différentes ; le tout avait été mis dans un four de boulanger à 24° environ. Après un certain temps, trois des tubes restèrent dépourvus de tout organisme vivant; le quatrième fut envahi par un mycélium de moisissures.

Pour Boutroux « les cellules de levure ne peuvent se développer dans le miel et y meurent. »

M. Alain Caillas (1), dans une conférence sur les «Trésors d'une goutte de miel », cite comme champignons trouvés : le mucor mucedo, le mucor racemosus, le penicillium glaucum et une bactérie : le pleurococcus vulgaris.

Nous avons repris l'étude bactériologique de différents miels, qui étaient toujours renfermés dans les alvéoles et nous avons pratiqué nos prises à l'intérieur des alvéoles avec toutes les précautions aseptiques désirables.

Méthodes employées. — Nous avons isolé les espèces qui nous intéressaient en diluant une certaine quantité de miel dans du bouillon de culture dont nous donnons la formule ci-jointe :

Peptone..........	2 gr. »
Glucose.....	0 50
Glycérine	5 cc.
Eau Q.S. pour...	100 cc.

Nous avons neutralisé par la sonde au 1/10 jusqu'à légère alcalinité et stérilisé ensuite un quart d'heure à 110°.

(1) *L'Apiculteur*, 1910.

Nous avons isolé les espèces par la méthode des boîtes de Pétri et par la méthode des stries successives ; nous avons eu par ces procédés un isolement parfait des différents germes.

D'autre part, nous avons employé du Raulin acide (1) sur lequel ne pousse que les champignons. Nous avons encore isolé par des dilutions successives les différents champignons.

Une fois ces expériences faites, bactéries et champignons isolés, nous les avons ensemencés sur les différents milieux employés en bactériologie (pomme de terre simple, glycérinée, carotte, gelose, etc.) de façon à en étudier les principales propriétés morphologiques et les différentes propriétés biologiques.

Etude morphologique des espèces : 1) *Fixation.* — Nous avons fixé, au moyen de la chaleur, de l'alcool, de l'acide picrique à saturation, du picroformol, etc.

2) *Coloration.* — Pour colorer nos préparations, nous avons employé :

a) *Pour les bactéries* : la thionine phéniquée, le violet de gentiane, la fuchsine de Ziehl, la méthode de Gram.

b) *Pour les champignons :* le bleu lactique, le rouge congo, le violet de gentiane et surtout le colorant triple de Gueguen à base de sudan III, iode et bleu lactique, qui permet de décéler à la fois le glycogène ou l'amidon,

(1) Liquide de Raulin :

Eau	1500	Carbonate de magnésie	0,40
Sucre candi	70	Sulfate d'ammoniaque	0,25
Ac. tartrique	4	Sulfate de fer	0,07
Nitr. d'ammoniaque	4	Sulfate de zinc	0,07
Phosphate d'ammoniaque	0,6	Silicate de potasse	0,07
Carbonate de potasse	0,6	Carbonate de manganèse	0,07

teint le protoplasma en bleu et colore les globules de graisse en rouge.

Remarques. — L'optimum cultural des bactéries et des champignons inférieurs a été effectué en disposant dans différentes étuves, aux températures de + 15° + 20° + 30° + 34° + 37° + 40°, des carottes ensemencées de champignons et de bactéries. Nous avions ainsi une idée de la température la plus favorable aux champignons.

Les essais ainsi conduits, nous ont donné les résultats ci-contre :

MIELS	BACTÉRIES	CHAMPIGNONS
Miel A (prov[t] d'alvéoles (M. de Bretagne)	Bacillus subtilis. 1 bactérie chromogène jaune	Cryptococcus glutinis. Penicillium glaucum. Saccharomyces cerevisœ
Miel C (prov[t] d'alvéoles) (M. de Normandie)	Sarcina lutea Bac. aerophilus. Bac. multipediculus. O lactis.	Sterigmatocystes nigra. Penicillium glaucum. 1 levure blanche du groupe Sacch. cerevisœ.
Miel C d'alvéoles. (M. des Cévennes)	B. substilis. 1 bactérie chromogène jaune. 1 bact. non identifiée du groupe du B. megaterium. O. lactis.	Mucor racemosus. Penicillium glaucum. 1 levure rose du groupe du cryptococcus rosaceus.
Miel D. de Narbonne.	Bacillus subtilis. O. lactis.	Rhizopus nigricans.
Miel E. du Gâtinais.	B. megaterium B. aerophilus Sarcina lutea 1 streptocoque.	Saccharomyces cerevisœ Mucor mucedo Penicillium glaucum. Aspergillus gracilis.
Miel F. des Landes.	Staphylocoque doré Bacillus megaterium Sarcina lutea.	Sterigmatocystes nigra Mucor racemosus Penicillium glaucum
Miel G. de Seine-et-Oise.	1 bacille du groupe du Pneumobacille de Friedlander B. multipediculus. Micrococcus radiatus.	Mucor racemosus.
Miel H. de Bretagne.	Staphylocoque doré Bacillus subtilis 1 bacille chromogène jaune	Penicillium glaucum
Miel I. de l'Yonne.	Bacillus aerophilus Micrococcus radiatus.	Rhizopus nigricans.
Miel J. de l'Allier.	Sarcina lutea O. lactis.	Saccharomyces cerevisœ Penicillium glaucum.

Parmi les bactéries, il est une espèce qui nous retiendra un peu plus longtemps ; c'est la *bactérie jaune* que nous avons isolée trois fois au cours de nos recherches. Nous avons fait une étude complète de cette bactérie tant au point de vue morphologique qu'au point de vue biochimique.

1) **Etude de la bactérie sur les différents milieux de culture employés en bactériologie.** — La bactérie s'est développée sur les milieux suivants : gélatine, gélose, carotte, pomme de terre, pomme de terre glycérinée, topinambour, albumine d'œuf, cela pour les milieux solides ; sur bouillon peptoné, bouillon maltosé, saccharosé, lactosé, glucosé, sur empois d'amidon, dextrine.

Tous ces milieux étaient placés à l'étuve à + 21°.

Examen microscopique. — Les bâtonnets composant cette bactérie sont immobiles, mesurent 1,6 μ à 2 μ de longueur et 0,50 μ de large et prennent le Gram.

Aspect des cultures sur les différents milieux. — Sur plaques gélatinées, les colonies bien développées sont des disques d'un beau jaune d'or, très régulièrement lobés ; les colonies ne répandent pas de reflets bleuâtres, elles sont très visqueuses et s'enlèvent d'un seul bloc.

En piqûres, la gélatine est assez vite liquéfiée dans une bonne partie de sa hauteur. Le liquide est absolument clair, il est recouvert d'une peau épaisse, floconneuse d'un beau jaune d'or.

En strie. — La liquéfaction est plus lente, la culture est également visqueuse, la bactérie agit surtout en ravinant en profondeur la gélatine qui arrive à avoir de

nombreuses excavations. Finalement, la gélatine se liquéfie complètement ; nous obtenons alors un voile jaune d'or en surface et un liquide transparent en profondeur.

Sur gélose. — La culture est épaisse, visqueuse, et peu coulante.

Sur pomme de terre simple. — C'est une membrane moyennement épaisse, jaune d'or.

Sur pomme de terre glycérinée, la culture est beaucoup plus luxuriante, la couleur plus vive, comparable à celle du staphylocoque doré. En vieillissant, la culture devient d'un jaune tirant sur le brun.

Sur carotte, la bactérie végète assez bien, la culture est gluante, très visqueuse, à tel point que tout le produit passe dans le petit réservoir inférieur.

Sur topinambour, la culture végète très mal. Nous obtenons toutefois au bout de dix jours quelques petites colonies, jaune d'or.

L'albumine n'est pas liquéfiée. (Voir partie biochimique).

Sur bouillon peptoné, la bactérie végète très bien ; il se produit au bout de trois jours un léger voile jaune clair, très fragile qui tombe au fond si l'on agite très modérément.

Enfin, la bactérie pousse également bien sur milieu lactosé, glucosé, maltosé, sur empois d'amidon, dextrine, lait, etc. (Voir partie biochimique).

La matière colorante secrétée par cette bactérie est très soluble dans l'alcool absolu, elle donne une liqueur jaune d'or pâle. Sous l'influence des alcalis, elle vire au jaune bistre ; elle est ramenée à la teinte par neutralisation ; les acides la font virer légèrement. La tempéra-

ture qui convient le mieux à la production du pigment est celle de $+30°$. C'est d'ailleurs l'optimum de la bactérie.

Etude biochimique de la bactérie. — Pour faire cette étude, nous nous sommes servis d'un bouillon peptoné à 1 °/₀, parfaitement neutre au tournesol après addition de carbonate de chaux et filtration (1).

Nous avons divisé le bouillon dans un certain nombre de tubes à essai que nous avons stérilisé 1/4 d'heure à 110° et classé en deux séries :

Série A. — 4 tubes, pour l'action de la bactérie sur les matières azotées (peptone-albumine cuite).

Série B. — 21 tubes pour l'action de la bactérie sur les hydrates de carbone (mannite, glucose, saccharose, lactose, dextrine, amidon.)

Ces 21 tubes divisés eux-mêmes en trois parties :

a) 7 pour les milieux tournesolés et carbonatés ($CO^3 Ca$).

b) 7 pour les milieux non tournesolés mais carbonatés.

c) 7 comme témoins non tournesolés, ni carbonatés.

Série A. — Nous avons ensemencé deux tubes avec la bactérie et dans l'un d'eux nous avons mis quelques tubes de Mett. Les deux autres non ensemencés ont servi de témoins.

Recherche de l'indol. — Nous avons ajouté dans un des tubes à essai contenant la solution aqueuse de peptone à 1 °/₀ et la bactérie X gouttes d'une solution d'azotate de potasse à 0,02 °/₀ et 15 gouttes d'acide sulfurique pur.

Nous n'avons pas obtenu la coloration rouge caractéristique de la présence de l'indol.

(1) *Diagnostic des bactéries par leurs fonctions bio-chimiques.* Grimbert, thèse Paris.

Albumine cuite. — Il n'y a eu aucune digestion du blanc d'œuf dans les tubes de Mett.

Série B. — *Action sur les hydrates de carbone.* — Dans ces essais, deux questions se posent :

1) L'hydrate de carbone est-il attaqué.

2) S'il l'est, quels sont les produits formés.

Pour répondre à la première question, nous nous sommes servis de bouillon peptoné, neutre et tournesolé et carbonaté au moyen de carbonate de chaux pur.

Nous avons opéré de la façon suivante :

Dans chaque tube contenant la solution de peptone à 1 °/₀, nous avons ajouté 0 gr. 50 de mannite, de glucose, de saccharose, de maltose, de lactose, de dextrine, et dans le dernier 1 cc. d'empois d'amidon à 1 °/₀. Nous avons stérilisé à 110° pendant un quart d'heure et après refroidissement, nous avons ajouté dans chacun 1 cc. de teinture de tournesol sensible stérilisée et 2 gr. de CO^3 Ca pur et lavé, destiné à saturer les acides au fur et à mesure de leur formation. Enfin, nous avons ensemencé. Dans aucun cas, après un séjour de trois semaines à l'étuve à 28°, la teinte violacée n'a changé.

D'autre part, dans 7 autres milieux identiques, mais non tournesolés, nous avons recherché si les hydrates de carbone ajoutés avaient subi des modifications.

1) *Mannite.* — La liqueur de Fehling n'a pas été réduite, donc absence de lévulose et le reste de liquide distillé a donné un liquide neutre au tournesol.

2) *Glucose.* — Nous avons dilué le bouillon pour en recueillir la moitié à la distillation. Dans le produit distillé divisé en trois parties, nous avons cherché à caractériser sans succès du reste ;

a) L'alcool par $SO^4 H^2$ et $Cr^2 O^7 K^2$.

b) Les aldéhydes par la fuschine bisulfitée.

c) L'acétylmethylcarbinol par son osazone.

3) *Saccharose.* — Nous avons obtenu une légère réduction de la liqueur de Fehling et une formation d'osazones caractéristiques du glucose.

4) *Maltose.* — Nous n'avons pas eu trace de glucosazones.

5) *Lactose.* — Il n'y a pas de changement de coloration de la teinture de tournesol.

6) *Dextrine.* — Il n'y a pas eu réduction de la liqueur de Fehling (absence de maltose).

7) *Amidon.* — La liqueur est restée bleue par l'addition de la solution iodo-iodurée.

A quelle bactérie faut-il rapprocher ce microorganisme ? Nous croyons la rapprocher de celle découverte par Dobrzymecki (1), dans la bouche d'un homme sain et qu'il nomme bacillus luteus. Cependant, la bactérie signalée par cet auteur ne liquéfie pas la gélatine. Elle semblerait alors être plus proche du bacille découvert par Rodservitsch (2) sur des épis de blé. Mais ici encore, les caractères morphologiques ne correspondent pas à ceux donnés par l'auteur. Nous croyons donc créer une espèce nouvelle pour cette bactérie présentant, chose curieuse, la coloration de certains miels et nous l'appellerons *bacillus mellis*.

En résumé, nous avons isolé de ces différents miels,

(1) Zweishromogen Mikroorganismen der Mund. höhle *Centrabl fur. Bakt*, XXI, 1897, p. 833.

(2) Rotservitsh, Ein neeur pigment bildender saprophyt. *Wratch*, 1897, N° 15, p. 436.

outre le *bacillus mellis*, des bactéries provenant de l'air et apportées par les abeilles dans les ruches.

Tels sont : bacillus subtilis ; bacillus megateriun, sarcina lutea, bacillus aerophilus, micrococcus radiatus, staphylococcus pyogène. Quant au pneumobacille de Friedlander, il a été assez souvent trouvé dans l'air.

Il en est de même pour les champignons isolés de ces différents échantillons de miel : les penicillium glaucum, rhizopus nigricans, saccharomyces cerevisæ, mucor racemosus, aspergillus gracillis, sterigmatocystes nigra.

III

Falsifications du Miel.

Comme tout produit naturel et relativement cher, le miel ne saurait échapper à la fraude.

Les miels altérés sont additionnés d'amidon, de farines, pour leur donner de la consistance, de la fermeté, de la blancheur et pouvoir être vendus comme miels frais.

Mais, à ces falsifications par trop faciles à reconnaître, des commerçants peu scrupuleux ajoutent des gommes, de la gélatine, de l'eau, puis plus couramment des produits sucrés qui, amenés en consistance convenable, ont l'apparence du miel ; tels sont le glucose, les mélasses, le saccharose.

De tels produits, mélangés au miel en proportions notables, échappent encore difficilement à l'analyse ; aussi, nos modernes falsificateurs préfèrent substituer au miel le sucre interverti préparé soit par voie chimique, soit par voie biologique. Enfin, certains apiculteurs, nourrissent presque exclusivement leurs abeilles au moyen de solutions sucrées.

Nous étudierons donc dans ce chapitre, les procédés que nous avons employés pour caractériser et doser ces différents produits dans des miels falsifiés.

Amidon et farines. — On reconnait la fraude : *a*) en ce que le miel ainsi traité s'épaissit plus ou moins en le

faisant chauffer (formation d'empois), alors que le miel naturel se liquéfie.

b) En dissolvant 10 gr. de miel dans 10 cc. d'eau et en abandonnant dans un verre conique ou mieux en centrifugeant, on a un dépôt blanchâtre, dont *une portion* prélevée et délayée dans un peu d'eau chaude donne une coloration bleu avec la solution iodo-iodurée.

L'autre partie est examinée au microscope : d'après la forme, l'agglomération des grains d'amidon, on caractérise la variété d'amidon à laquelle on a affaire.

Si la quantité d'amidon est relativement élevée, on fait un titrage en le transformant en maltose et glucose soit au moyen de diastases ou soit par l'action à chaud des acides étendus d'eau.

Gélatine. — Pour rechercher la gélatine, on dissout 10 gr. de miel dans 20 cc. d'eau ; on filtre au coton et on ajoute au liquide filtré, dix fois son volume d'alcool à 80°. On recueille le précipité sur un filtre ou on le laisse déposer dans un tube à essai. On décante, on met de côté une partie du précipité, le reste est dissous dans l'eau.

La dissolution est elle-même divisée en trois portions :

Dans l'une, on ajoute goutte à goutte une solution de tannin fraîchement préparée qui précipite la gélatine ; dans l'autre, on verse un excès d'une solution saturée d'acide picrique, qui donne un précipité de picrate de gélatine ; enfin, la troisième est additionnée d'une solution concentrée de résorcine qui précipite également la gélatine.

D'autre part, on introduit dans un tube à essai,

contenant de la chaux vive, la partie du précipité mise de côté : à l'orifice du tube, on présente un petit morceau de papier de tournesol rouge humide recouvert d'un verre de montre et on chauffe au-dessus d'un bec Bunsen ; il se produit un dégagement d'ammoniaque bleuissant le papier de tournesol et donnant des fumées blanches de chlorhydrate d'ammoniaque au contact d'une baguette trempée au préalable dans l'acide chlorhydrique.

Dosage de la gélatine. — On se base sur la propriété qu'à la formaldéhyde d'insolubiliser les matières albuminoïdes (1) :

On dissout une quantité connue de miel dans 10 fois son poids d'eau et on se débarrasse du sucre par fermentation. On filtre, on concentre jusqu'à consistance sirupeuse et on ajoute alors 1 cc. d'aldéhyde formique. On continue l'évaporation jusqu'à consistance pâteuse. On reprend le résidu par de l'eau bouillante qui dissout la gomme inattaquée s'il y en a, ainsi que les autres produits solubles. On laisse déposer 24 heures et on décante le liquide surnageant. On lave à l'eau bouillante la gélatine insolubilisée et préalablement broyée ; finalement on sèche au B. M et on pèse.

Gomme. — *Essai qualitatif.* — Pour rechercher s'il y a de la gomme, on précipite une quantité connue de miel mis en solution (1-2) par 10 fois son volume d'alcool à 95°.

On dissout une partie du précipité alcoolique précédent dans le moins d'eau possible et on ajoute quelques gouttes de perchlorure de fer concentré et neutre qui produit un gummate de fer, insoluble, cailleboté de couleur jaune.

(1) A. Trillat, A. C. A. 3, 1898, p. 401.

Dosage. — Pour faire le dosage, on applique le procédé Roussin, fondé sur la réaction précédente : on dissout 10 gr. de miel dans 10 cc. d'eau et on verse le miel ainsi fluidifié dans 100 cc. d'alcool à 95°. On précipite ainsi la gomme, les dextrines et des matières minérales. On jette sur un filtre et on lave à l'alcool. On dissout ensuite le précipité au moyen d'eau chaude ; on ajoute 1 gr. environ de chaux, quelques gouttes de perchlorure de fer, on agite et on jette le tout sur un filtre.

La dextrine passe dans la liqueur filtrée et pourrait être dosée par précipitation alcoolique comme il a été indiqué page 36. Quant au mélange restant sur le filtre, on le traite par de l'acide chlorhydrique ; la combinaison de la gomme et du fer est détruite. On précipite la gomme de la solution par de l'alcool concentré. On la recueille, on la dissout dans l'eau et on la précipite une seconde fois par de l'alcool acidulé. On dessèche et on pèse.

Remarque. — On pourrait aussi reconnaître si l'on a affaire à de la gomme arabique ou de la gomme adragante au moyen de 1 cc. de teinture fraîche de gayac, quelques gouttes d'eau oxygénée à 10 °/₀ et cela directement sur le miel mis en solution (1-2) ; avec la gomme arabique, on aurait une coloration bleu de la solution (présence de ferment oxydant).

Glucose. — Pour rechercher le glucose, on fait un essai qualitatif et un essai quantitatif.

A) *Essai qualitatif*. — Tout d'abord, on sait que le sirop de glucose est préparé généralement en faisant réagir de l'acide sulfurique sur l'amidon à chaud et sous

pression. La solution qui est ensuite neutralisée à la craie est filtrée et évaporée dans le vide. Il se forme donc dans cette opération du glucose et des dextrines en quantités plus ou moins notables, selon que la saccharification a été poussée plus ou moins loin. Grâce à ces dextrines, au sulfate de chaux en excès, et aussi à l'arsenic, lorsque le glucose aura été préparé avec de l'acide sulfurique arsenical, on caractérisera l'addition du glucose au miel.

a) RECHERCHE DE LA DEXTRINE. — I° *Par le procédé Beckmann* (1). — Ce procédé est fondé sur ce que les dextrines des miels ne se colorent pas par le réactif iodo-ioduré, alors que celles du glucose prennent une teinte plus ou moins violacée.

Mode opératoire. — On additionne la solution aqueuse de miel suspect (1-2) de quelques centimètres cubes de solution iodo-iodurée. En présence de sirop de glucose, la solution passe au rouge plus ou moins violacé ; l'intensité et l'aspect de la coloration dépendant de la quantité et de la nature du glucose employé pour la falsification, on opérera par comparaison avec un miel pur.

On augmentera la sensibilité de la réaction en précipitant les matières dextriniformes par l'alcool (p. 36) et en ajoutant le réactif iodé dans la solution aqueuse de dextrines.

Autre essai de Beckmann. — On additionne 5 cc. de la solution de miel à 20 °/₀, de 3 cc. de baryte (2 °/₀ de $Ba(OH)^2$ et on ajoute aussitôt en une fois 17 cc. d'alcool méthylique. On a un précipité très abondant, s'attachant aux parois en présence de glucose et un précipité à peine sensible avec les miels purs.

(1) BECKMANN, *Zts. anal. chem.*, 1896, XXXV, 267.

Toutefois, les dextrines du miel naturel et du glucose étant précipitées, il sera nécessaire de faire un essai avec la liqueur d'iode.

II° *Recherche de la dextrine par le procédé de Fiehe* (1). — Ce procédé est fondé sur ce que la dextrine du glucose est précipitée par l'alcool en présence de l'acide chlorhydrique, tandis que la dextrine du miel reste dissoute dans ces conditions.

Mode opératoire. — On additionne la solution aqueuse de miel (1-2) d'un centimètre cube d'une solution de tannin à 5 °/₀. On porte au BM, pendant quelques instants et on laisse reposer 12 heures ; les matières albuminoïdes sont ainsi précipitées. On filtre et à 2 cc. du filtrat clair, on ajoute 2 gouttes d'acide chlorhydrique concentré (D = 1,19) et 20 cc. d'alcool à 94°. Le liquide reste limpide dans le cas d'un miel naturel, et devient laiteux en présence d'un miel additionné de glucose.

Examen des cendres. — L'examen des cendres donnera encore d'utiles renseignements pour rechercher le glucose.

1) On caractérisera le sulfate de chaux en traitant les cendres par de l'eau légèrement acidulée à l'acide chlorhydrique et en essayant sur la liqueur divisée en deux parties.

a) L'action du chlorure de baryum.

b) Et sur la seconde portion, l'oxalate d'ammoniaque après neutralisation à l'ammoniaque.

2) Les cendres du miel naturel sont alcalines, alors

(1) Fiehe, *Zts. Unters Nahr. Genussm.*, 1909, XVIII, p. 30, et *Chem. Zeitung*, 1909, p. 603.

que les cendres du glucose, en raison de l'acide minéral employé à la fabrication, sont neutres.

3) Enfin, d'après Otto Hehner (1), les miels naturels renferment de 0 gr. 01 à 0 gr. 03 °/₀ d'acide phosphorique et les miels de glucose de 0 gr. 085 à 0 gr. 108 °/₀. Nous avons aussi constaté que les miels que nous avons examinés avaient une teneur moyenne de 0 gr. 01 °/₀ à 0 gr. 02 °/₀, exprimés en $P^2 O^5$ (Voir résultats analytiques, p. 46).

Recherche de l'arsenic provenant d'un acide sulfurique arsenical. — On recherche cet élément en détruisant la matière organique selon le procédé de M. Villiers, dont le principe est le suivant : « Lorsqu'un corps oxydable se trouve dans des conditions telles que l'oxydation ne commence pas encore ou ne se produise que très lentement, l'addition d'une trace d'un sel de manganèse accélère la réaction ». On fera donc réagir sur le miel analysé de l'acide chlorhydrique étendu de deux à trois volumes d'eau, quelques gouttes d'une dissolution d'un sel de manganèse et un peu d'acide azotique que l'on remplace ensuite par petites portions, à mesure qu'il est détruit par l'oxydation des matières.

Il se fait dans cette réaction :

$$2\ As\,Cl^3 + 3\ H^2\,O = As^2\,O^3 + 6\ HCl$$

Sur le résidu, on recherche l'arsenic soit au moyen de l'appareil de Marsh, soit aussi avec le réactif de M. Bougault (2).

(1) Otto Hehner, *Pharmaceutical Record*, 1885, p. 419.

(2) *Préparation du réactif.* — Hypophosphite de soude............ 10 gr.
Eau distillée pour dissoudre........ 10 cc.
Solut. off. d'acide chlorhydrique QS p. 200
Laisser déposer. Décanter ou filtrer sur un tampon de coton.

Emploi du réactif de Bougault. — On ajoute à la prise d'essai mise dans un tube à essai, 10 cc. du réactif et une ou deux gouttes de solution décinormale d'iode et on laisse en contact un quart d'heure ; s'il y a de l'arsenic, il se forme un précipité brun-noirâtre et une odeur caractéristique d'oxyde de cacodyle.

DOSAGE DU GLUCOSE (1). — La présence du glucose étant constatée, on le dosera de la façon suivante :

Soient x, y et z ; α, α', α'', les poids de glucose, de lévulose et de sucre de canne dissous dans 100 cc. et leurs pouvoirs rotatoires respectifs.

On détermine la somme p du glucose et du lévulose par la liqueur cupro-potassique après dilution convenable :

$$x + y = p$$

de même après interversion.

La différence des deux résultats, multipliée par 0,95, donne immédiatement le poids z de sucre de canne.

On détermine enfin la déviation A de la solution primitive :

$$A = \frac{\alpha \, l \, x}{100} + \frac{\alpha' \, l \, y}{100} + \frac{\alpha'' \, l \, z}{100}$$

d'où l'on tire :

$$X = \frac{100 \, A - l \, (\alpha' p + \alpha'' z)}{l \, (\alpha - \alpha')}$$

Saccharose et mélasses. — 1) SACCHAROSE. — On fera l'examen des sucres réducteurs avant et après inversion, et on multipliera la différence par 0,95. Les miels naturels renferment rarement plus de 10 °/₀ de saccharose.

(1) A. VILLIERS, COLLIN et FAYOLLE, *Falsif. Alim.* III, p. 94.

2) Mélasses. — On recherchera les mélasses :

1) En faisant l'examen des sucres, comme pour le saccharose.

2) En caractérisant le raffinose par la réaction de Beckmann et on examinera les cendres.

Réaction de Beckmann à l'acétate de plomb. — On ajoute à 5 cc. de la solution de miel à 20 °/₀, 2 cc. 5 de sous-acétate de plomb et 22 cc. 5 d'alcool méthylique ; il se produit un abondant précipité brun-jaunâtre d'une combinaison plombique de raffinose si le miel contient des mélasses.

Examen des cendres. — Alors que les miels naturels, ne renferment que des traces de chlorures, les miels additionnés de mélasses en contiennent de notables proportions.

On aura avantage à faire cet examen des chlorures sur le charbon ainsi que nous l'indiquons dans la partie analytique (p. 39). Pour les doser on emploiera la méthode Charpentier-Vohlard : on ajoute 1 cc. d'acide azotique à la solution des chlorures, 10 cc. de solution d'azotate d'argent $\frac{N}{10}$ et quelques gouttes d'une solution concentrée d'alun de fer. On dose ensuite le nitrate d'argent non combiné avec une solution décinormale de sulfocyanate de potasium, jusqu'à ce que la coloration rose saumon due au sulfocyanure de fer apparaisse.

Remarque. — *Cas d'un miel de miellée.* — Le miel de miellée présentant certains caractères d'un miel falsifié avec du glucose ou des mélasses (déviation dextrogyre,

absence de catalase) (1), il sera prudent de s'assurer que l'on est bien en présence d'un miel naturel.

Différentes méthodes ont été proposées : le principe consiste à se débarrasser de la dextrine ; c'est ainsi que

a) Sieben (2) base sa méthode sur ce que la dextrine des miels est facilement fermentescible par le *saccharomyces ellipsoïdus.*

2) Beckmann la précipite par l'alcool méthylique en présence d'un peu d'eau de baryte.

3) König et Karsch par l'alcool absolu et après inversion de la solution sucrée, examinent au polarimètre. Dans le cas d'un miel naturel, on a une déviation lévogyre et dans le cas d'un miel contenant au moins 25 °/₀ de glucose une déviation dextrogyre.

Sucre interverti préparé par voie chimique.

Préparation. — Pour préparer ce sucre interverti, on chauffe (4) du sucre de canne avec de l'eau et une quantité très faible d'acide chlorhydrique ou d'acide tartrique, citrique, formique.. et on maintient l'ébullition jusqu'à ce que la solution ait acquis une couleur jaune.

Dans cette opération, il se fait du glucose et du lévulose, mais une partie du lévulose formé, étant donné l'élévation de température, se décompose et en se deshydratant donne naissance au β oxy. δ methylfurfurol.

(1) Auzinger. *Zeits. f. Untersuch der Nahrungs und. genussmittell.*, 1910, p. 65.

(2) Sieben, *König's Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe*, 3 d., p. 593.

(3) König et Karsh, *Zts. anal. Chem.*, 1895, 341.

(4) Herzfeld, *Zts. Ver. d. Zucker Ind.*, 31; 1908.

$$\begin{array}{l} CH^2-OH \\ | \\ CO \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH^2OH \end{array} - 3H^2O = \begin{array}{cc} OH & CHO \\ | & | \\ C & = C \\ | & \\ C & = C \\ | & | \\ H & CH^3 \end{array} > O$$

On ne peut rechercher le sucre interverti par le polarimètre étant donné qu'il se rapproche beaucoup de la composition du miel.

Par contre, la présence constante de l'impureté que nous venons de voir, permettra de le retrouver, avec la même facilité que l'on caractérise le glucose par la dextrine, la chaux, l'arsenic...

Méthode employée. — On se sert de la réaction de Fiehe (1), basée sur ce que l'oxy. β methyl. furfurol, donne une coloration rouge cerise caractéristique avec une solution de résorcine dans l'acide chlorhydrique concentré.

Préparation du réactif. — On dissout une partie de résorcine dans 100 parties d'acide chlorhydrique concentrée (d = 1,19).

Mode opératoire. — On fait d'autre part une solution aqueuse de miel (10-10) et on épuise par 20 cc. d'éther, dans une boule à décantation, en agitant lentement pour ne pas émulsionner le mélange. On laisse reposer pen-

(1) Fiehe, *Zeits f. Unters. d. Nahr. u. Genussmittel*, 1908, p. 492.

dant quelques minutes et on décante ensuite la partie aqueuse. On lave l'éther à plusieurs reprises avec l'eau distillée, on décante à nouveau et on reçoit finalement l'extrait éthéré après filtration dans une capsule ou une soucoupe de porcelaine où on le laisse s'évaporer lentement. Sur le résidu obtenu, on fait tomber quelques gouttes du réactif « résorcine-acide chlorhydrique ». Si le miel examiné contient du sucre interverti chimique, il se produit immédiatement une coloration rouge orange qui passe au rouge vif avec formation de précipité, s'il y a une quantité notable de dérivé furfurolique. Cette coloration rouge cerise, qui seule doit être prise en considération, doit être stable au moins pendant 24 heures.

Précautions à prendre. — On vérifie que l'éther employé ne laisse aucun résidu par évaporation et ne donne aucune coloration avec le réactif « résorcine-HCl. »

Enfin, on renouvelle le réactif le plus souvent possible.

Deuxième moyen pour déceler le sucre interverti, par l'acétate d'aniline.

Préparation du réactif. — On ajoute 5 cc. d'aniline à 5 cc. d'eau et on verse ensuite de l'acide acétique en quantité suffisante pour obtenir un liquide clair.

Mode opératoire. — On fait une solution de miel dans l'eau (a = a) et on fait couler le réactif à la surface de la solution miellée, à l'aide d'une pipette effilée pour éviter de mélanger. En présence de furfurol, on obtient une coloration rouge à la surface de séparation des deux liquides.

La réaction de Fiehe souleva et soulève encore de nombreuses polémiques, surtout en Allemagne.

Luhrig par exemple dit « que sur huit miels authentiques, cinq seulement lui donnèrent un résultat négatif en appliquant la réaction de Fiehe, deux autres un résultat positif en prolongeant la durée de la réaction une heure ; enfin la huitième donna un résultat positif et de ce fait devait être considéré comme produit artificiel ». Pour Luhrig, la réaction ne paraît donc pas permettre de conclure avec certitude à l'addition de sucre interverti, c'est-à-dire à la falsification.

Enfin, on a reproché à cette réaction de ne pas distinguer un miel chauffé d'un miel artificiel (1) (2) (3) (4).

Nous avons appliqué ces deux réactions (réaction de Fiehe et réaction à l'acétate d'aniline):

1°) A tous les *miels naturels* que nous avons étudiés. Dans tous les cas, la réaction a été négative.

2°) A des *miels contenant des proportions variables de sucre interverti chimique*. Dans tous les cas, la réaction a été positive.

3°) A des *miels chauffés*. Le miel surchauffé serait celui qui au moment de son extraction aurait subi longtemps l'action de la chaleur, procédé qui, dans la pratique, ne saurait exister étant donné que même dans les contrées où l'on emploie encore la chaleur pour extraire le miel, on évite une trop longue durée de chauffe ou une trop forte élévation de température.

Nous avons essayé l'action de la chaleur à différentes températures sur différents miels.

(1) Drawe, *Zts offentl. chem.*, 1908, XVI, p. 75.
(2) Ev. Raumer, *Zts Nahr. Genussm*, 1909, XVII, p. 115.
(3) M. Klassert, *Zts Nahr. Genussm*, 1909, XVII, p. 126.
(4) Bremer et Sponnazel, *Zts Nahr. Genussm*, 1909, XVII, p. 664.

Pour ce qui est de la recherche du furfurol, même après avoir chauffé deux heures à 100°, les réactions de Fiehe et à l'acétate d'aniline ont été négatives. Après une heure à 105°-110°, la réaction a été encore négative. Enfin, il y a lieu de remarquer qu'un tel produit n'est plus du miel ; une partie de son eau est évaporée et son arome n'existe plus.

Les réactions de Fiehe et à l'acétate d'aniline étant négatives aussi bien avec tous les miels naturels étudiés, qu'avec des miels chauffés, toutes les fois que les essais seront positifs, on sera en droit de conclure à l'addition de sucre interverti par voie chimique.

Ces conclusions, du reste, sont en parfait accord avec celles formulées par G. Neuhoff de Dormund (1), H. Kreiss de Bâle (2), G. Beuz d'Heilbronn (3), A. Jägerschmid de Strasbourg (4), E. Baier de Brandebourg (5), A. Röhrig de Leipzig (6), W. Pietri de Coblentz (7), C. Reese de Kiel (8). Riechen de Strasbourg (9), A. Reinsch d'Altona (10), Witte de Mersebourg (11), Muttelet, en France (12), F. Reinhardt de Limbourg (13),

(1) Neuhoff, *Bericht d'Untersuchungsamtes*. Dortmund, 1908.

(2) Kreis, *Berich der Kautonalen chemischen Laboratoriums*. Basel, Stadt, 1908.

(3) Beuz, *Bericht der Untersuchungsamtes*, Heilbronn, 1908.

(4) Jaegerschmid, *Zts Nahr. Genussm*, 1909, XXVII, p. 671.

(5) E. Baier, *Bericht d. Unter*. Brandebourg, 1908.

(6) Röhrig, *Bericht d. Untersuchungsanstalt*. Liepzig, 1909.

(7) Pietri, *Bericht d. Untersuchungsamtes*. Coblentz. 1909.

(8) Reese, *Bericht d. Untersuchungsamtes*. Kiel, 1909.

(9) Riechen et Fiehe, *Chem. Zeitung*, 1908, XXXII, 1090.

(10) Reinsch, *Bericht d. Untersuchungsamtes*. Altona, 1909.

(11) Witte, *Zts. Nahr. Genussm*, 1909, XVIII, p. 625.

(12) Muttelet, *Annales des Falsificat*. 1910, p. 206.

(13) Reinhardt, *Zts. Nahr. Genussm*, 1910, XX, 113.

Nymann et Wichmaun, en Finlande (1), Utz de Munich (2), K. Keiser de Berlin (3) et Henle (4).

Sucre interverti par voie biologique. — Ce sucre interverti se prépare par l'action de l'invertine sur le saccharose. Dans cette action, il se forme *seulement* du glucose et du lévulose. Aussi ce sucre interverti étant le même que celui du miel, on peut en introduire jusqu'à 80-85 °/₀, sans que les chimistes, appliquant strictement les méthodes généralement employées, puissent le reconnaître.

C'est alors qu'en recourant à la méthode chimique (dosage de l'azote total, des matières albuminoïdes, de la dextrine, des cendres, etc.) et à la méthode biologique, on aura de précieuses indications.

Méthode biologique. — Nous avons vu que tous les miels naturels, contiennent en proportions variables sans doute, de l'invertine, de l'amylase et une catalase (Voir p. 60).

On opérera donc pour caractériser et doser ces diastases suivant les procédés donnés précédemment.

Réactions spéciales. — A côté de ces essais, il y a lieu de signaler la réaction de Ley (5) qui fut très employée, en Allemagne, avec l'apparition de la réaction

(1) Nymann, *Pharm. Zentralbl.*, 1910, LI, 815.

(2) Utz, *Chem. Zeit.*, 1908, p. 655.

(3) K. Keiser, *Beitrage zur Neubearbeitung der Vereinbarungen zur Unter. von. Nahrungsmitteln, u. sw.* Band. I, Berlin, 1911.

(4) Henle, *Die chimie des Honigs*, 1911.

(5) *Pharm. Zts.*, 1902, XLVII.

de Fiehe pour distinguer les miels naturels des miels artificiels.

Principe de la réaction — La réaction de Ley est un essai colorimétrique consistant à traiter une solution aqueuse de miel, par une solution ammoniacale d'oxyde d'argent au BM bouillant et à l'abri de la lumière, puis à observer l'aspect de la masse liquide. Les solutions fluorescentes, translucides, obtenues avec les miels naturels, sont pour Kœbner (1) et aussi pour C. Amberger (2) « des solutions colloïdales d'argent métallique, qu'on peut également obtenir avec l'albumine. »

Préparation du réactif. — On dissout 10 gr. d'azotate d'argent dans 100 cc. d'eau, et on ajoute à cette solution 20 cc. de soude à 15 °/₀. Le précipité d'oxyde d'argent formé est recueilli sur un filtre, lavé avec 400 cc. d'eau et dissout dans de l'ammoniaque à 10 °/₀. On ajoute encore de la même ammoniaque, de manière à avoir 115 cc. de liquide et on conserve à l'abri de l'air et de la lumière.

Mode opératoire. — On fait une solution de miel (1-2) que l'on filtre, on verse 5 cc. du filtrat dans un tube à essai et on additionne de V gouttes de réactif, en évitant d'en laisser tomber sur les parois ; on mélange et après avoir bouché avec un tampon de coton, on porte rapidement au BM bouillant pendant cinq minutes, en évitant l'accès de la lumière.

Nous avons appliqué la réaction à des miels naturels, à des miels entièrement artificiels et à des mélanges des deux.

(1) Kœbner, *Ch. Ztg.*, 1908, N° 8, 32 et 89.
(2) C. Amberger, *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XX, 665.

Interprétation des résultats. — En tournant le dos à a lumière, nous avons constaté :

1) Que la fluorescence est gris-vert avec les miels naturels et sans fluorescence avec les miels artificiels ou mélangés.

2) En regardant par transparence la solution contenue dans les tubes, le liquide est transparent, limpide avec les miels naturels, tandis qu'avec les miels artificiels ou leurs succédanés, le liquide est opaque, brun sale, couleur chocolat, avec formation d'un précipité d'argent.

Conclusion. — Les différentes méthodes signalées, ne peuvent à elles seules, pour la plupart, avoir la prétention de déceler à coup sûr si un miel est falsifié, il sera tout d'abord nécessaire de faire une étude analytique complète du miel expertisé, suivant la méthode générale que nous avons suivie pour l'analyse des miels français. Ainsi, on se rendra déjà compte si tous les éléments normaux du produit se retrouvent et s'ils sont en proportions normales dans le miel examiné.

Recherche des antiseptiques

L'addition d'antiseptiques au miel permet à ce produit de se conserver sans s'altérer, surtout lorsque ce dernier est d'extraction grossière, qu'il contient du couvain, de la cire... et aussi une quantité d'eau anormale provenant soit d'une mauvaise récolte ou d'une extraction faite avant l'operculation complète des alvéoles, soit aussi d'une addition frauduleuse.

Les principaux antiseptiques que l'on recherchera sont : l'acide formique ; les acides benzoïque, salicylique, l'abrastol, la saccharine ; les chromates, fluorures, le borax, l'acide sulfureux.

Recherche de l'acide formique. — A. Vogel (1) Mullenhoff (2) conseillaient aux apiculteurs l'emploi d'acide formique pour conserver les provisions de miel et pour 100 kgr. de matière sucrée, ils faisaient ajouter 200 gr. d'acide formique à 50 % (soit 0,10 %).

Le miel contenant naturellement de l'acide formique, la recherche d'aussi petites quantités ajoutées *en excès* devient délicate : le titrage acidimétrique permettra de se rendre compte si l'acidité est beaucoup supérieure à la moyenne trouvée généralement dans les miels.

(1) *Pharm. centralhalle*, 1882.
(2) *Journal de Ph^ie d'Anvers*, 1886, p. 182.

MÉTHODE GÉNÉRALE POUR LA RECHERCHE DE QUELQUES AUTRES ANTISEPTIQUES

Certains antiseptiques seront recherchés soit dans le résidu de l'évaporation d'un dissolvant approprié, soit dans les cendres.

C'est ainsi que l'éther dissoudra l'acide benzoïque, l'acide salicylique, l'abrastol, la saccharine. Par contre, les chromates, les fluorures, le borax se retrouveront dans les cendres après la calcination du miel.

1) **Recherche de l'acide benzoïque, de l'acide salicylique, de l'abrastol, de la saccharine**. — On met le miel en solution (1-2), on l'acidule avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué et on agite lentement avec 20 cc. d'éther dans une boule à décantation.

On fait trois épuisements successifs à l'éther. On lave les trois extraits éthérés réunis avec un peu d'eau distillée ; on décante et finalement on évapore la solution éthérée sur quatre petites soucoupes en porcelaine : A, B, C, D.

A) **Acide benzoïque**. — On reprend le résidu de la capsule A par quelques cent. cubes d'eau distillée chaude ; on filtre et laisse évaporer. On obtient :

Des cristaux arborescents visibles à la loupe, possédant l'odeur aromatique spéciale à l'acide benzoïque.

On les reprend à nouveau par quelques cent. cubes d'eau chaude et on divise la solution en deux parties :

La première est évaporée dans une capsule de platine au BM tout d'abord et quand il n'y a plus que l'acide

benzoïque, on chauffe à la flamme d'un bec Bunsen : il y a émission de vapeurs irritantes ;

La deuxième partie exactement saturée par la potasse donne avec le perchlorure de fer neutre, un précipité rose pâle, insoluble dans l'eau, soluble dans un peu d'acide chlorhydrique, en laissant déposer la plus grande partie de l'acide benzoïque en cristaux blancs.

Acide salicylique. — La réaction se fait au moyen de perchlorure de fer qui donne une coloration très nette avec des traces excessivement faibles d'acide salicylique.

On peut opérer, soit directement sur l'extrait éthéré, soit sur la solution aqueuse de cet extrait, mise dans un tube à essai ; pour augmenter la sensibilité de l'essai, on verse doucement le perchlorure de fer à la surface de la solution d'acide salicylique.

Réactif. — Le perchlorure de fer doit être rigoureusement neutre. On en étend une partie avec de l'eau distillée, jusqu'à ce que la solution soit à peine teintée en jaune.

Causes d'erreur dues au tannin et au caramel. — 1) *Présence de tannin.* — Certains auteurs ayant trouvé du tannin dans le miel, on s'assurera au moyen de perchlorure de fer que l'échantillon de miel examiné n'en contient pas. Si toutefois la réaction était positive, on éliminerait le tannin en ajoutant quelques cent. cubes d'une solution de gélatine à 1/10, on filtrerait et on continuerait la réaction comme plus haut.

On pourrait aussi reprendre le résidu éthéré par de la benzine qui ne dissout que l'acide salicylique et faire la réaction directement sur la solution benzénique.

Présence de produits caramélisés. — Un miel extrait au moyen de la chaleur, peut, si le chauffage a été poussé un peu fort sur certains points de la bassine, donner naissance à un produit laissant croire à la présence de l'acide salicylique en appliquant la réaction au perchlorure de fer (1).

Mais, 1° la coloration donnée par le perchlorure de fer est rouge avec un peu de réactif et violette avec davantage.

2° Même en milieu fortement acide, la réaction se produit encore, alors qu'avec l'acide salicylique, on n'obtient aucune coloration.

Abrastol. — Pour rechercher l'abrastol, on se base sur sa décomposition à chaud par l'acide chlorhydrique étendu : il se forme du sulfate de chaux, de l'acide sulfurique et du naphtol β qu'on n'a plus qu'à caractériser (procédé Sanglé-Ferrière).

Mode opératoire. — On reprend le résidu de la capsule C, par 100 cc. d'eau distillée environ ; on ajoute 4 cc. d'acide chlorhydrique et on fait bouillir doucement pendant environ 40 minutes. Lorsque la liqueur est refroidie, on l'épuise deux fois par environ 50 cc. de benzine qu'on lave une ou deux fois dans une boule à décantation ; on filtre et on fait évaporer lentement à la température ordinaire.

Le résidu de l'évaporattion est dissous dans 10 cc. de chloroforme et introduit dans un tube à essai. On y fait tomber une pastille de potasse caustique préalablement imbibée d'une goutte d'alcool absolu et on chauffe une

(1) *C. A. C. S.*, 1910, p. 541.

ou deux minutes à la température d'ébullition du chloroforme (dans un bain d'eau à 60° environ). Après ce temps, on voit apparaître une belle coloration bleu de Prusse, passant rapidement au vert.

Avec des traces d'abrastol, le fragment de potasse est seul coloré en bleu et le chloroforme est légèrement verdâtre.

Saccharine. — On reprend le quatrième résidu éthéré par une petite quantité d'eau chaude et on filtre rapidement dans une boule à décantation (la cire et le propolis restent sur le filtre) ; on ajoute 20 cc. de benzine et on agite. On décante la benzine et on l'abandonne tout d'abord à l'évaporation spontanée dans un vase à fond plat, puis dans une étuve chauffée à 80° pour éliminer les dernières traces de benzine.

On reprend le résidu de la soucoupe par quelques centimètres cubes d'eau chaude et on caractérise la saccharine :

1) Par son goût sucré, en prélevant une goutte de la liqueur que l'on met sur le bout de la langue.

2) Par la réaction chimique suivante basée sur la transformation de la saccharine en acide salicylique par fusion avec la soude et la caractérisation de l'acide salicylique par le perchlorure de fer.

Mode opératoire. — On verse la solution aqueuse de saccharine dans un tube à essai, en rinçant ensuite la capsule avec 2 cc. de solution de soude à 1/10 à 36° ; on évapore doucement et on porte le tube dans un bain de soudure (1) préalablement liquéfié où on le maintient

(1) Villiers, Collin et Fayolle, *Traité des falsif. et altérat. des mat. alimentaires*, t. III, p. 130.

pendant quelques minutes à une température variant entre 230 et 300°. On le retire ensuite, on le laisse refroidir et on dissout le résidu dans de l'acide sulfurique dilué. La solution est agitée avec de la benzine ; celle-ci décantée et filtrée est additionnée de 5 cc. de perchlorure de fer à 1/1000. On observe ensuite la coloration violette, caractéristique de la présence de l'acide salicylique.

Recherche des chromates, fluorures et borates. — On recherche les chromates, fluorures et le borax dans le produit de l'incinération du miel, jusqu'à obtention de cendres.

Celles-ci sont divisées en trois parties.

1) **Chromates.** — On reprend le résidu par quelques centimètres cubes d'eau et on filtre ; le liquide qui est incolore généralement est teinté en jaune s'il y a des chromates.

On divise cette solution en deux parties :

a) On chauffe 5 cc. d'acide chlorhydrique concentré, additionné de quelques gouttes de carmin d'indigo dans un tube à essai et on laisse tomber quelques gouttes de liqueur chromique. Il se produit une décoloration immédiate (présence d'un corps oxydant).

b) On acidule le reste du liquide au moyen de quelques gouttes d'acide sulfurique dilué et on ajoute II ou III gouttes d'eau oxygénée à 12 volumes. L'acide perchromique formé est recueilli dans l'éther qu'il colore en bleu.

2) **Fluorures.** — On introduit les cendres dans un

petit creuset de porcelaine avec un peu de silicate de chaux bien sec, précipité. On mélange et on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique. On recouvre rapidement le creuset au moyen d'une lame de verre parfaitement sèche, sur laquelle on a fait tomber, au préalable une toute petite goutte d'eau (1). Il se dégage du fluorure de silicium qui se décompose au contact de l'eau, en donnant de l'acide hydrofluosilicique et de la silice gélatineuse, laquelle se manifeste par un dépôt opaque, en forme d'anneau, autour de la goutte d'eau.

Acide borique. — Pour rechercher cet antiseptique, nous employons le procédé de MM. Villiers et Fayolle.

« On humecte la troisième partie des cendres avec 1 cc. d'acide sulfurique et on fait passer dans un petit ballon le liquide qui peut en être séparé ; on lave le fond du vase avec 3 cc. d'alcool méthylique, ajoutés en deux ou trois fois et on réunit dans le ballon ces portions successives. On bouche aussitôt le ballon et on l'adapte à un réfrigérant descendant ; on chauffe le mélange jusqu'à apparition des vapeurs blanches d'acide sulfurique et on enflamme de suite le liquide distillé, recueilli en évitant une évaporation partielle, après l'avoir transvasé dans une petite soucoupe.

On observe la flamme verte, en se plaçant devant un fond noir et en évitant une lumière trop intense. »

Recherche de l'acide sulfureux et des sulfites. — L'acide sulfureux peut avoir servi comme décolorant de

(1) *Tableaux d'analyse qualitative des sels*, par M. A. Villiers, 4e édit. p. 140.

miels foncés ou comme antiseptique. On le recherche directement sur le miel.

Il peut s'y trouver sous deux formes :

1) A l'état de sulfates, provenant de l'oxydation de l'acide sulfureux ou des sulfites.

2) A l'état de combinaisons aldéhydiques ou cétoniques avec le glucose et le lévulose. Sous cette seconde forme, tandis que l'iode attaque immédiatement l'acide libre et les sulfites pour donner des sulfates, il ne réagit pas à froid sur ces combinaisons. Pour les détruire, il faut ajouter une solution de soude ; il se fait alors des sulfates.

1) **Recherche de l'acide sulfureux libre.** — On acidule au moyen d'acide chlorhydrique une solution de miel à 10 % ; on verse quelques gouttes d'une solution de chlorure de baryum, on chauffe et on filtre pour séparer les sulfates ainsi précipités. Le liquide filtré est additionné d'une solution iodo-iodurée et de quelques gouttes de solution de chlorure de baryum ; s'il y a de l'acide sulfureux, on a un précipité de sulfate de baryte.

2) **Recherche de l'acide sulfureux, combiné aux matières organiques.** — *Procédé Ripper.* — On précipite complètement l'acide sulfureux comme il est indiqué plus haut et on filtre pour séparer le précipité. On ajoute au liquide filtré quelques cent. cubes d'une solution de potasse ou de soude ; on laisse en contact un quart d'heure, puis on acidule au moyen d'acide chlorhydrique et on laisse tomber quelques gouttes de chlorure de baryum. On obtient un précipité dans le cas d'acide sulfureux combiné.

Recherche de l'eau oxygénée. — On aura rarement l'occasion de rechercher l'eau oxygénée, celle-ci disparaissant par suite de la catalase des miels.

Conclusions. — Les caractérisations chimiques des antiseptiques que nous venons de voir permettront ainsi de se rendre compte de leur présence ; mais l'examen biologique et bactériologique, mettra aussi en garde le chimiste contre la présence possible d'agents entravant les fonctions diastatiques et microbiennes.

Miels toxiques

Si les plantes peuvent communiquer au miel leurs parfums suaves et leurs qualités propres, elles peuvent aussi lui donner des propriétés désagréables et même dangereuses.

Nous signalerons donc dans ce chapitre les pays où l'on a trouvé des miels vénéneux, les plantes sur lesquelles ce miel a été butiné et les principaux symptômes de ces intoxications aigües.

Les premiers récits des effets produits par ce genre de miels se trouvent dans l'Anabase de Xénophon (1), au sujet de « l'Expédition de Cyrus », plus connue sous le nom de la « Retraite des dix Mille » : près de Trebizonde, les soldats trouvèrent des quantités de ruchers qu'ils n'épargnèrent pas, du reste ; mais bientôt, ils eurent un dérangement intestinal et des vomissements suivis de rêveries et des convulsions ; les moins malades ressemblaient à des personnes ivres, les autres à des fous ou à des moribonds et la terre était jonchée de cadavres comme après une bataille ; le lendemain, ils recouvraient leurs sens et le troisième et le quatrième jour, ils étaient hors danger ».

Strabon (2), l'ancien historien, raconte que trois esca-

(1) Xénophon, *Anabase*, lib. 4.
(2) Strabon, lib. 12, p. 826.

drons des troupes de Pompée furent détruits par une tribu sauvage habitant les montagnes de l'est de Themyscyra, alors que les soldats étaient sous l'influence enivrante d'un miel toxique qui les avait tenté. » Dioscoride (1) et Aristote (2) mentionnent des miels d'Heraclée dans la province de Pont, produisant une folie passagère. Ces deux auteurs pensent que les abeilles butinaient le miel sur le buis, et Diodore de Sicile (3) dit que dans la Colchide, il y avait un miel qui jetait ceux qui en mangeaient dans un abattement tel qu'ils ressemblaient pendant plus d'un jour à des personnes mortes.

Pline (4) signale également aux environs d'Héraclée du miel produisant de la folie et appelé « maïnomenon » ou furieux à cause de son action sur le tempérament ;

Pline pensait que ce miel, qui provoque en outre de l'éternuement et une soif intense, était dû à une plante appelée « aegolethron » dont les fleurs en se fanant durant les printemps humides, acquièrent des propriétés dangereuses. Tournefort (5) a appelé cette plante rhododendros pontica Plinii, pour la distinguer du rhododendros ordinaire qui est notre laurier rose ; cette dernière ne croit pas sur les côtes de Pont-Euxin.

Peysonnel (6) mentionne 25 tonnes de miel toxique, récolté à Abbaze au nord-est de la côte de la Mer Noire ;

(1) Dioscoride, lib. II, chap. LXXV.

(2) Aristote, Référence. Thèse Ec. Sup. Phie, Paris, 1892, « *Etude sur le miel.* »

(3) Diodore de Sicile, lib. XIV.

(4) Pline, Référence. Thèse Ec. Sup. Phie. Paris, 1896. « *Etude sur le miel* ».

(5) Tournefort, *Extrait des Mémoires du Muséum*, 12, p. 295, 1825.

(6) Peysonnel, *Traité sur le commercé de la Mer Noire*, Paris, 1787.

ce produit appelé « miel fol », était mêlé aux boissons enivrantes pour en augmenter l'effet.

Hamilton (1) dit que les miels récoltés sur les bords de la Mer Noire ont un goût amer et il cite comme source principale de ce miel les rhododendrons et les azaleas.

Bilotti (2), consul de Trébizonde, signale le datura stramonium qui croît en abondance sur la côte et qui pourrait être la cause naturelle du miel nocif du pays.

Enfin, plus récemment, Thresh (3), Plugge (4) et Stockmann (5) examinent les miels de Trébizonde, les deux premiers au point de vue chimique, le troisième au point de vue physiologique.

Pour Thresh, les abeilles n'auraient pas butiné sur le datura ; l'expérience ayant été faite sur l'œil d'une grenouille, la pupille ne s'est pas dilatée, comme le fait se produit ordinairement en présence des principes mydriatiques du datura.

Au point de vue physiologique, Stockmann a fait des expériences sur des animaux avec la substance extraite du miel, au moyen d'éther de pétrole et de chloroforme : les sujets traités ont été atteints d'une paralysie du cerveau, de la moelle épinière, la respiration fut particulièrement affectée, tandis que le cœur resta presque intact et la mort survint par asphyxie (paralysie de la respiration).

(1) Hamilton. « *Travels in Asia-Minor*, p. 155, 1842.
(2) Bilotti, 1879 (C. 233), p 1023.
(3) Thresh, *Pharmaceutical Journal and transact.* 1887, vol. XVIII, p. 397.
(4) Plugge, *Arch. der Pharm.*, 1889, 227, p. 164.
(5) Stockmann, *Therap. Gazette*, 1898, p. 586.

Plugge a extrait le principe actif qu'il appelle « andromedotoxin » ; pour cela, il a fait un extrait alcoolique avec de l'alcool absolu, a évaporé l'alcool, repris le résidu par de l'éther de pétrole d'abord et du chloroforme ensuite ; sur le résidu de l'évaporation, il a versé de l'acide sulfurique concentré qui produisit une coloration rouge brun devenant rouge par la chaleur et couleur « mûre » en diluant avec de l'eau ; les alcalis détruisirent la coloration qui réapparut en acidifiant.

Enfin plus tard (1), le même auteur trouve de l'*andromedotoxin*, dans toute une série de plantes de la famille des Ericacées (*andromeda japonica*, *A. palifolia*, *rhododendron falkoneri*, etc.) et il confirme que les empoisonnements de Trébizonde sont bien dus aux *rhododendron ponticum :* au moyen de petits tubes capillaires, il puise le nectar des fleurs du *rhododendron ponticum* et l'expérimente sur des animaux ; ces essais donnent les effets caractéristiques déjà signalés du miel de Trébizonde et la réaction de l'andromedotoxin.

L'Asie Mineure n'est pas la seule contrée où l'on ait trouvé des miels toxiques : Gallien (2) rapporte l'empoisonnement de deux médecins de Rome, avec du miel.

En Amérique, Saint-Hilaire (3) fut intoxiqué par un miel sauvage butiné sur une sapindacée (*paullinia australis*), par une guêpe du genre Lecheguana, il ressentit des douleurs d'estomac, eut le délire et de l'amnésie.

(1) Plugge, *Arch. der Pharm.*, V. 29, p. 552 et *Ann. J. Pharm.*, 63, p. 603.
(2) Gallien, Extr. de thèse, Ec. sup. Ph., Paris, déjà cité.
(3) Saint-Hilaire, *Mém. de Muséum*, 12, p. 295-1825.

Aux Etats-Unis, B.-S. Barton (1), reconnaît que le miel récolté en Pensylvanie, sur les kalmia, andromeda, occasionne des maux d'estomac, des vomissements, des convulsions et que ces accidents peuvent être mortels.

Le même auteur parle de voyageurs qui établirent des ruchers dans la New-Jersey et ne récoltèrent qu'un miel toxique ; ils le transformèrent alors en une boisson appelée *metheglin*, mais qui était aussi pernicieuse que le miel.

Coleman (2), rapporte que quarante personnes à New-Jersey furent empoisonnées par un miel toxique : une mourut, six furent sérieusement affectées et les autres incommodées légèrement. L'empoisonnement se manifesta par une brûlure d'estomac, des frissons et des nausées. A l'analyse du miel. on trouva qu'il contenait de la gelsemine. Des essais physiologiques furent faits avec certains de ces miels : on administra à des chats des extraits alcooliques de plus en plus forts ; la petite dose produisit une légère dépression générale et une relâche des muscles volontaires ; la plus forte dose produisit rapidement de l'agitation, des vomissements, de la diarrhée et une perte presque complète des muscles volontaires.

Lorsque l'animal voulut marcher, les membres antérieurs semblaient vouloir aller dans une direction et les membres postérieurs dans une autre ; c'est seulement après 24 heures que l'animal reprit son agilité normale.

D'autres cas d'empoisonnements par le miel ont été

(1) Barton, *Trans. Am. Phil. Soc.*, 9, 91, 1802.

(2) Coleman, *Med. Reporter*. Burlington, 1852, VI, 46-48.

signalés dans diverses régions : en Allemagne, le Dr Lanzoni (1), raconte qu'une jeune fille de la campagne ayant mangé beaucoup de miel fut enivrée et déraisonna deux jours durant.

Dans le même ouvrage, le Dr Paullini, parle d'un chat très avide de miel, qui avait des crises épileptiques toutes les fois qu'il en mangeait.

En Suisse, Haller et Seringe (2) citent le cas de deux vachers qui furent gravement malades et dont l'un mourut pour avoir fait usage de miel récolté sur des *Aconitum napellus* et *A. lycoctonum ;* le miel avait été butiné par une variété d'abeille nommée *bombus terrestris.*

Robert Moffat (3), raconte que des missionnaires du Sud-Africain eurent un commencement d'empoisonnement caractérisé par des maux de tête et une brûlure à la gorge, après avoir mangé du miel d'Euphorbe.

Dudgeon (4) signale un miel de l'île de Wight qui eut la propriété d'augmenter pendant six jours l'odorat et la sensibilité des personnes qui en mangèrent. Et John Attlee (5) appelé auprès d'un de ses amis qui avait mangé une cuillerée d'un miel vénéneux, constate un grand abattement, des nausées et une perte de connaissance pendant quelques minutes.

(1) Lanzoni, Décurie III, année 2, p. 39. Extr. de *Mat. médicale* de Geoffroy, règne animal, IIIe livre, M.D.CC.,LVI.

(2) Haller et Seringe, Monographie du genre Aconitum, *in Mus. Helv.*, vol. I, p. 128. Extr. de *Mém. du Museum*, p. 295, ann. 1823.

(3) R. Moffat, *Missionary Labours and scenes in South africa*, 1846. Extrait du *Pharm. Journ. ond Trans*, p. 475, 1887-88.

(4) Dudgeon, *Lancel*, 1896, p. 1420.

(5) Attlie, *Lancet*, London, 1896, II, 1113.

En résumé, 1) les fleurs sur lesquelles les abeilles vont butiner un nectar dangereux sont : les *rhododendron ponticum*, *azalea pontica*, les *kalmia angustifolia*, *latifolia*..., l'*andromeda mariana*, les *aconitum napellus* et *A. lycoctonum*.

2) Les symptômes diffèrent suivant les pays : toutefois, on peut remarquer avec le Dr Auben (1) trois formes principales d'intoxication :

la forme gastrique,
— nerveuse,
— cérébrale.

La première caractérisée par des nausées, des vomissements violents qui durent un à deux jours avec quelquefois de la diarrhée.

Dans la forme nerveuse, la sensibilité est exagérée, les muscles des bras, des jambes sont excessivement douloureux.

Dans le troisième cas, on trouve des phénomènes cérébraux ; ils débutent par l'amnésie complète, perte de connaissance et crises nerveuses.

Enfin, il y a lieu de signaler à côté des miels toxiques, une variété de miels que nous appellerons médicamenteux ; ils doivent leurs propriétés bienfaisantes aux principes butinés par les abeilles sur certaines plantes.

Déjà en Australie, on avait trouvé des miels d'eucalyptus.

En France, certains apiculteurs (2) en cultivant des nerpruns (*ramnus catharticus*) autour de leurs ruches,

(1) Auben, *Bristish Med. Journal*, Extr. de *Pharm. Ztg.*, p. 642, 1905.
(2) Allin Caillas, « Trésors d'une goutte de miel » *l'Apiculteur*, juillet 1910.

ont obtenu un miel qui pris à la dose de deux cuillerées, produit un effet purgatif très marqué comme le sirop du même nom.

En Australie (1) un naturaliste français M. E. Guilmeth, a trouvé en Australie une ruche monstre au sommet d'un eucalyptus. Le miel récolté et étudié avait l'odeur sui generis de l'eucalyptol. A l'analyse chimique, on a trouvé comme principes actifs de l'eucalyptol, de l'eucalyptène, du cymol dans les proportions de 17 °/₀.

Les expériences faites sur des animaux et sur l'homme ont donné les résultats suivants :

1) *Sur les animaux.* — En administrant en plusieurs fois par jour à des chiens 150 à 175 gr. de ce miel, on a constaté un ralentissement des mouvements du cœur et par suite une diminution très surprenante du nombre des pulsations ; la température s'abaissait de 1° centigrade et ces effets durèrent 24 heures au moins avec une légére tendance au sommeil (donc modérateur et hypothermique).

2) *Sur l'homme.* — Les expériences faites à petite dose (4 cuillerées à bouche par jour) donnèrent des résultats à peu près de même ordre que l'ingestion d'eucalyptol : anticatarrhal, antiputride, paratiscide et antiblennorrhagique (à cause des hydrocarbures).

(1) Note lue à l'*Ac. de Méd.* de Paris par Th. Caraman, 25 janvier 1887.

CONCLUSIONS

En résumé, après avoir dit ce que doit être le miel et donné ses sources naturelles et artificielles, nous avons :

1) Identifié les matières protéiques qui sont contenues et en particulier l'albumine proprement dite, la globuline et les albumines de transformation.

2) Reconnu la présence d'amylase, d'invertine et de catalase et l'absence d'oxydases dans les miels français.

3) Déterminé les champignons et les bactéries susceptibles de se rencontrer dans le miel.

4) Isolé une bactérie jaune jusqu'à présent non identifiée et que nous appellerons *bacillus mellis*.

5) Donné une méthode générale d'examen du miel au point de vue :

organoleptique et micrographique,
saccharimétrique,
chimique,
biologique.

6) Appliqué cette marche générale à l'analyse d'une cinquantaine de miels français de provenances diverses, ce qui nous a donné une composition moyenne des miels.

7) Etudié la recherche des antiseptiques et surtout des falsifications les plus usitées.

8) Enfin, nous avons terminé ce travail par un aperçu sur les miels toxiques.

BIBLIOGRAPHIE

Nous nous sommes inspiré en partie pour ce travail de la compilation de A. H. Bryan (1), et l'avons complétée.

1791. J. Bruce. *Travels to discover the source of the Nile.* Vol. V., or appendex Ouarto Ed., p. 151.

1799. W. Curtis. *Botanical Mag.*, 13, 433.

1819 Schrauk. *Med. chir. Ztg.* Salzb. I, 316.

1822. W. Kirby and W. Spence. *Edinbourg-Review.* 37, 122.

1824. *Mémoires du Muséum.* II, 313.

1830. J. Lindley. *Natural system of Botany*, Ed.. p. 180, seconde éd. 221. Amer. First. Ed., p. 183.

1834. K. E. Abbot. *Phil. Mag* (3), 5, 313.

1842 W.-J. Hamilton. *Researches in Asia Minor*, I, 160 et II, 283.

1855. J. D. Hooker. *Hymalayan journal*, I, 190.

1861. L. Bidie. *Madras. Quart. journ. Med. Sci.*, 3, 399.

1873. Le Maout, Decaisne and J.-D. Hooker. *System of botany*, p. 517.

1872. J. Gaumer. *Gleanings in Bee Culture*, fel. ABC., *of Bee Culture*, by. A, Boot, p. 163.

1877 *Pharm. Journ. Traus* (3), 8, 184; *Proc. Am. Pharm. Assoc.*, 26, 529.

1879. A. Biliotti. *Consul At Trebizonde.* Report of., 2331, p. 1023.

1883 P.-C. Plugge, *Arch der Pharm.*, 221 et 813.

— A. Nesbitt. *Gardeners' Chronicle* (2), 20, 763, et *Pharm. J. Traus* (3), 14, 504.

— C.-W. Dod. *Gardeners' Chronicle* (2), 20, 793. *Pharm. J. Traus* (3), 14, 504.

— H. Clarke. *Gardeners' Chronicle* (2), 20, 819.

— H.-J. Roos. *Gardeners' Chronicle* (2), 20, 821.

(1) Ministère de l'Agriculture des Etats-Unis (1908). *Bulletin* nº 110.

1885. P.-C. Plugge. *Arch. der Pharm.*, 223, 905.

— H. Bley. *Pharm. Ztg.*, 30 Nov., 25 ; *Pharm. J. Trans* (3), 16, 448.

1886. H.-G. de Zaayer. *Ouederzoekingen over Andro medotoxine,* Dissert. Gronigen.

1887. P.-C. Plugge and H.-G. de Zaayer. *Pflüger's Arch. f. Physiol.*, 40, p. 480.

— H.-J. Ross. *Gardeners' Chronicle* (2), déc. 17, 748. *Pharm. J. Traus* (3), 18, 548.

— T.-L. Brunton. *Pharm. J. Traus* (3), 18, 475.

1891. P.-C. Plugge. *Arch. d. Pharm.*, 229, p. 554 ; *Chem. Ztg.*, 15, p. 310.

1892

Dowet (A.-W.). *Am. J. Pharm.*, 64, 458.

Neill (O.-W.). *Poisonous, honey, Lancet*, London, 1892, II, 1268.

Dieterich (Eugen). The value of Dialysis in Distinguishing Honey, and the Chemistry of Honey, by Oscar Haenle. *Helfenberger Annalen* 1892 (1893), 61 ; abs. *Centhbl.*, 1893, 64 (2) ; 1035.

Morpurgo Giulo. Honey. *Zts. Nahr. Unters. Hyg. Waarenk.*. 6 ; 307. 337; abs. *Centrbl.* 1892, 63 (2) ; 516, 614.

Sendele (A.). Chemical Analysis of Honey according to Haenle's Method. *Zts. Nahr. Unters. Hyg. Waarenk.*, 6, 271 ; abs. *Centrbl.*, 1892, 63 (2) ; 428.

Wiley (H.-W.). Honey from the Aphis or Leaf House. *J. Amer. Chem. Soc.*, 14 : 350 ; abs. *Centrbl.*, 1893, 64 (1) : 691.

1893

Beisterfeld. Honey Analysis, *Rev. inter. falsifié* 7 : 43 ; abs. *Centrbl.*, 1894-65 (1) ; 118.

Deltour (Em.). Chimical Analysis of Honey, *Rev. inter. falsif.*, 7 : 182, 204 ; abs. *Centrbl.*, 1894, 65 (2) : 455, 672.

Fajans (A.). The So-called Turkish. Honey. *Chem. Ztg.*, 17 : 1826; abs. *Centrbl.*, 1894, 65 (1) : 244.

Mansfield (M.). The Dialysis of Honey. *Zts. Nahr. Unters. Hyg. Waarenk.*, 7 : 33 ; abs. *Centrbl.*, 1893, 64 (1) : 805.

Neuberger (A.). The Haenle Method. for Honey. *Zts. Nahr. Unters. Hyg. Waarenk.*, 7 : 163 ; abs. *Centrbl.*, 1893, 64 (2) : 164.

Willaret (W.-L.). Composition of Russian Honey. *Pharm. Z. Russland*,

32 : 55 : *Viertelj-Fortschr. Chem. Nabrungsm.*, 8 ; 26 ; abs. *Centrbl.*. 1893, 64 (2) : 613.

Weigle (Th.). The Examination of Honey by Dialysis. *Forschungsher. Lebensm.*, 1 : 65 ; abs. *Centrbl.*, 1894, 65 (1) ; 526.

— Report of Committee of Swiss Analytic Chemists on Metbods of Examining Honey. *Schweiz. Wochens. Chem. Pharm.*, 32 : 4 ; abs. *Centrbl.*, 1894, 65 (1) ; 397.

1894

Hefelmans Rudolf Dextrorotatory Bees Honey. *Pharm. Cent.*, 35 : abs. *Centrbl.*, 1894. 65 (2) : 585.

Partheil (A.). Examination of Honey. Apoth Ztg., 9 : 662 ; *Viertel'j. Fortsch Chem. Nahrurgsm.*, 9 : 372 ; abs. *Centrbl.*, 1895, 66 (1) : 363.

Raumer (Ed.) Von. The composition of Honeydews and their Influence of the Properties of floral Honey. *Zts. anal. Chem.*, 33 : 397 ; abs. *Centrbl*,. 1894, 65 (2) : 739.

Utescher (E.). Dextrorotatory, Floral. Honey. *Pharm. Centrbl.*, 35 : 527 ; abs. *Centrbl.*, 1894, 65 (2) : 612.

Weichmann. Investigations of tbe Cristalising Properties of Honey. Sugar Cane. 19 : 408 ; *Viertely Portsch. Chem. Nahrungsm.*, 9 : 366 ; abs. *Centrbl.*, 1895, 66 (1) : 350.

1895

Am. Bee. J., 35. 825.

Bottler (Max). Contribution to tbe Examination of Honey. *Zts. Nahr. Unters. Hyg. Waarenk.*, 69 ; abs. *Centrbl.*, 1895, 66 (1) : 798.

König (J.). And Karscb. W. The relation of Dextrose and Levulose in Honey and its application in the Determination of adulteration. *Zts. anal. Chem.*, 34 : 1 ; abs. *Centrbl.*, 1895, 66 (1) : 364.

Pfister (Rudolf). Experiments in the microscopy of Honey. *Forschungsber Lebensm*, 2 : 1, 29 ; abs. *Centrbl.*, 1895, 66 (1) : 592, 810.

Utescher (E.). Opinion as to tbe Possibility of Distinguishing between artificial and natural Honey. *Apoth. Ztg.*, 10, 278 ; abs. *Centrbl.*, 1895, 66 (2) : 238.

1896

Beckmann (Ernest). Examination of Honey. *Zts. Anal. Chem.*, 35 ; 263 ; abs. *Centrbl.*, 1896, 67 (2) ; 401.

Am. Bee J., 36, 146. 246, 262 and 372.

Kebler. *The medical and surgical reporter* (75), p. 332-337.

Dudgeon. *Lancet* (1), II, 1420.

Attlee. *Lancet* (1), II, 1113.

Boerrigter (B.-J.). Investigations of Honey. *Nederl. Tijdoschr. Pharm.*, 3 ; 133 ; abs. *Centrbl.*, 1896, 67 (2) ; 121.

Haenle (O.). Chemistry of Honey. Strasburg. Kummann. O and Hilger A. Chemistry of Honey. *Forschungaber. Lebensm*, 3, 211 ; abs. *Centrbl.*, 1896, 67 (2) ; 476.

Wiley (H.-W.). The estimation of Levulose in Honey and Other substances. *J. Amer. Chem. Soc.*, 18, 81 ; abs. *Centrbl.*, 1896, 61 (1) : 577.

1897

Delaite (Julien) Adulteration of Honey. *Rev. intern. falsific.*, 10 : 42 ; abs. *Centrbl,*, 1897, 68 (1) : 1036.

1898

Ambühl (G.). Adulteration in Switzerland. *Rev. intern. falsif.*, 11 : 155; abs. *Centrbl.*, 1898, 19 (2) : 1063.

Degener (P.). Table Honey. *Pharm. Ztg.*, 43, 427 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1899, 2 : 162.

Frühling (R.). The Polarisation of Honey. *Zts. offentl. Chem.*, 4 : 410 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1899, 2 : 161 ; abs. *Centrbl.*, 1898, 69 (2) : 305.

Guhler (H.). Table Honey and its préparation. *Zts. offentl. Chem.*, 1898, 4 : 676 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1899, 2 : 162 ; abs. *Centrbl.*, 1898, 69 (2) : 864.

Kellen (Tom). Color and Taste of different Honeys. *Apoth. Ztg.*, 13 : 382 ; abs. *Ztg. Nahr. Genussm.*, 1899, 2 : 162.

The Use of the Term Honey. Decree of the Belgram Courts. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1899, 1 : 372.

Woorhees. *Indian Lancet.* Calcutta. XI, 413.

1899

Haenle (O.). Contribution to the knowledge of Honey. *Pharm. Ztg.*, 44 : 742 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1900, 3 : 366.

Hoitsema (C.). Honey Analysis. *Zts. Anal. Chem.*, 38 : 439 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1900, 4, 365 ; abs. *Centrbl;*, 1899, 70 (2) : 794.

Schnaelck (L.). Honeys in Norway. *Rev. intern. falsific.*, 12 : 10 ; abs. *Centrbl.*, 1899, 70 (1), 537.

1900

Takeokay. *Tokyo. Iji. Schinsi.* 40.

1901

Beckmann (E.). Honey Dextrin. *Zts. Nahr. Genussm.*, 4 : 1065 ; abs. *Centrbl.*, 1902, 73 (1) : 230

Bömer (A.). Colored Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*, 4 : 364 ; abs. *Centrbl.* 1901, 72 (1) : 1174.

Frühling (R.). Honey Analysis. *Zts. öffentl. Chem.*, 7 : 385 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1902, 5 : 623.

Heckmann. Colored Artificial Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*, 4 : 1142 ; *Centrbl.*, 1902, 73 (1) : 232.

Ley (H.). Honey of Citron Yellow. Color. *Zts. Nahr. Genussm.*, 4 : 828 ; abs. *Centrbl.*, 1901, 72 (2) : 894.

1902

Beythien (A.). Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*, 5 : 624.

Braütigam (W.). Examination of Honey. *Pharm. Ztg.*, 47 : 109 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1902, 5 : 622.

Langer. Ferments in Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*, 5 : 1204.

Leffmann (Henry). Honey. *The Analyst.*, 27 : 355 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1903, 6 : 1011 ; abs. *Centrbl.*, 1903, 74 (1) : 302.

Ley (H.). Mel und Mel depuratum D. A. B. IV. *Pharm. Ztg.*, 47 : 277 ; abs. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1902, 5 : 623.

Marpmann (G.). Honey Analysis. *Pharm. Ztg.*, XLVII, 748.

Marpmann. Honey Analysis. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1903, VI, 1012.

Racine (R.). Honey examination and adulteration. *Zts. öffentl. Chem.*, VIII, 821.

Raumer (E. Von). Influence of Feeding sucrose and Glucose on Properties of Honey. *Zts. Anal. Chim.*, XLI, 333.

Tohnann (L.-M.). Polarisation of Honey. *J, Amer. Chem. Soc.* XXIV, 515.

1903

Axenfeld (D.). Invertin in Honey *Centrbl. Physiol.*, XVII, 268.

Beythien (A.). H. Hempel, P. Borish. Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*, VI, 554.

Carpiaux (E.). Analysis of a sample of Congo Honey. *Bull. Assoc. Belge*, XVII, 32.

Farnsteiner (R.). Leudrich K., Znik J., and Buttenberg. Heated. Honey. *Zts. Nahr Genussm.*, VII, 310.

Langer (J.). Ferments in Bees' Honey. *Zts. Nahr. Genuss.*, VI, 1010.

Leach (Albert-E.). Estimation of Commercial Glucose in Honey. *J, Amer. Chem. Soc.*, XXV. 982.

Shutt; Frank. Charron (A.-T.). Estimation of Water in Honey. *Chem. News*, LXXXVII, 195, 210.

Chemistry of Bee Keeping. *Canadian Experimental Farms.*, 155.

Trafic in Honey. *Zts. Nahr Genuss.*, VI, 533.

1904

Hilger (A.). Contributions to the Knowledge of the Dextrius in Dextrorotatory Coniferous. Honeys. *Zts. Nahr. Genuss.*, VIII, 110.

Ley (H.). Contribution to the question of Honey adulteration. *Pharm. Ztg.*, XLVIII, 693.

Lührig (H.). Artificial Honey. *Ber. Chem. Untersuch. Chemnits.*, 1904, p. 27.

Marpmann Examination and valuation of Honey. *Pharm. Ztg.*, XLVIII, 1010.

1905

Aubin. *N. Zealand*, *M. J.* Wellington, 19, 25.

Kühn. *Pharm. Ztg.*, 50, 642.

Beythien (A.). New. Honey substitutes. *Zts. Nahr. Genuss.*, X, 14.

Hofman (J.-J.). Honey Knegar. *Pharm. Wee Kblad*, XLII, 704.

Matthews and Muller. Honey Analysis. *Zts. Nahr. Genussm*, 9, 739.

Raumer (E. Von). The use of fermentation methods in the laboratory a contribution to the knowledge of commercial Glucose. *Zts. Nahr. Genuss.*, 9, 705.

Riess (G.), Chimical examination of a preparation called Fruktin; abs. *Centrbl.*, 1905, 7, 6 (2) : 1115.

Stadlinger. Hermann. Examination of bee Honey. *Pharm. Ztg.*, 50; 536, 549.

Van der Wielen (P.). Honey and Wax. *Pharm. Weekblad.* XLII, 409.

1906

Renisch (A.). Honey. *Zts. Nahr. Genuss*, 1907, XIII, 757.

Utz. Tge Würsburger Honey Process. *Zts öffentl. Chem.* XII, 467.

Honey Analysis. *Bul. Dominion of Canada*, p. 323.

1907

Fiehe (J.). Polarimetric estimation of sugars in Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*, 14, 299.

Lehmann (P.) and **Sadlinger** (H.). Polarimetric estimation of sugars in Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*, 13 : 397.

Raumer (E. Von). Honey. *Zts. Nahr. Genussm.*. 14 : 17.

Utz. Ley's reaction for Invert Sugar in Honey. *Zts Angew. Chem.*, 20 : 993.

1908

Farnsteiner (K.). L'acide formique dans les miels. *Zts Nahr. Genuss.* XV, 598.

Schaffer (F.). Analyse du miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, XV ; 605.

Utz (F.). Teneur en cendres du miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, XV, 361.

Reinsch (A.). id. id. XV, 493.

Schwarz (F.). La réaction de Ley. *Zts. Nahr. Genuss.*, XV, 403 et 739

Fiehe (J.). Recherche du miel artificiel. *Zts. Nahr. Genuss.*, XV, 492.

— Le miel naturel et le miel artificiel. *Zts Nahr. Genuss.*, XVI, 75).

Kreiss (H.). Le Mielat. *Zts. Nahr. Genuss.*, XV, 361.

Kreiss. Teneur en cendres des miels. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVI, 415.

Rohrig (A.) Teneur en cendres. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVI, p. 415.

— « Honigaroma », *Zts. Nahr. Genuss.*, XVI, 415.

Merl (Th.). Recherche de l'acide formique. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVI, 385.

Raumer (E.-V.). La réaction de Fiehe dans les miels surchauffés. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVI, 517.

1909

Sajö. *Scient Am. N. J.*, 130.

Lund (R). Les matières albuminoïdes dans le miel, *Zts. Nahr. Genuss.*, XVII, 128.

Browne (C.-A.). Les miels américains. *Zts. ver Deutsch. Zuckerind.*, 1908, XLV. 751.

Raumer (E.-V.). La réaction de Fiehe. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVII, 115.

Klassert (M.). id. id. p. 126.

Drawe. id. id. p. 472.

Reinsch (A.). id. id. p. 646.

Bremer (W.). et **Sponnagel** (F.). id. id. p. 664.

Jagerschmid. Miel artificiel. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVII, 113 et 671.

Kœbner (M.). La réaction de Ley. *Chem. Ztg.*, 1908, XIV, 21.
Utz. La réaction de Marpmann, *Zeits. offentl. Chem* 1908, XIV, 21.
Luhrig (H.) et Satory. Essai du miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVII, 59.
Solstein (P.). Essai du Miel. *Pharm. Ztg.*, 1907, LII, 1071.
Riechen et Fiehe. Réaction à la résorcine chlorhydrique. *Chem. Zeitg.*, 1908, XXXII, 1090.
Utz. Extrait sec. *Zts. angerv. Chem.*, 1908. XXXI, 1319.
Fiehe (J.). Miel naturel et miel artificiel. *Chem. Zeitg.*, 1908, XXXII, 1045.
Neubauer. Le nourrissement. *Zts. Nahr. Genuss.*, XVII, 58.
Utz. id. *Zts. offentl. Chemie*, 1908, XIV, 171.
Young (W.-J). Le pollen dans le miel. *Zts. ver Deutsch. Zuckerind.*, 1908, XLV, 806.
Rohrig (A). Teneur en cendres. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1909, XVIII, 30.
Fiehe (J.). Recherche du glucose. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1909, XVIII, 30.
Utz. La réaction de Fiehe. *Zeits. angew. Chem.*, 1808, XXI, 2315.
Behre (A) id. *Pharm. Zentral.*, 1909, L. 173.
Neuhoff (G.). Les réactions de Ley et de Fiehe. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1909, XVIII, 332.
Keiser (K.). Recherche du miel artificiel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1909, XVIII, 331.
Kreis (K.). Les réactions de Ley et de Fiehe. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1909, XVIII, 482.
Benz (G.). La réaction de Fiehe. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1909, XVIII, 482.
Witte. Etudes sur le miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1909, XVIII, 625.

1910

Auzinger (A). Les ferments du miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910. XIX, 65: 353.
Baier (E.). La réaction de Fiehe. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XIX, 348.
Reinsh (A.). La réaction de Fiehe. *Zts. Nahr. Genuss.*; 1910. XIX, 349.
Ambühl (G.). Essence artificielle pour miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910 XIX, 348.
Baier (E.). Le nourrissement. *Zets. Nahr. Genuss.*, 1910, 346.
Utz. id. id. p. 349.
Dafert (F.-W.) et Freyer (F.). id. id. 1910, XX, 45.
Utz (F.). Acidité du miel. *Zts. Nahr. Genuss*,, 1910, XX, 44.
Reinhardt (F,). Les réactions de Ley et de Fiehe et de Jagerschmidt. *Zts. Nahr Genu* 1910, XX, 113.

Nussbaumer (Th.). La fermentation du miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XX, 272.
Hertkorn (J.). Examen du miel. *Chem. Zeitung*, 1909, XXXIII, 481.
Langer (J.). Examen biologique du miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XX, 596.
Raümer (E.-V.). La réaction de Fiehe. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XX, 583.
Reese (C.). Miel artificiel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XX, 597.
Röhrig (A.). Etude sur le miel. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XX, 597.
Behre (A.). id. id. p. 597.
Petri (W.). id. id. p. 597.
Amberger (C.). La réaction de Ley. *Zts. Nahr. Genuss.*, 1910, XX, 665.
Muttelet (F.). L'analyse des miels. *Ann. des falsif.*, 1910, XIX, p. 206.
Quantin (H.). Le sucre interverti dans les miels commerciaux. *Ann. Chim. anal.*, 1910, p. 299.
Curtel (G.). L'analyse des miels. *Ann. falsif.*, 1910, XXVI, p. 497.
Muttelet (F.). Le miel et son analyse. *Ann. falsif.*, 1910. XXVI, p. 503.
Moreau (Ed.). Analyse des miels français. *Ann. de falsif.*, 1910, XXVI, p. 513.

1911

Haenle (Oscar). *Die Chemie des Honigs.* Strasbourg, 1911.
Moreau (Ed.). Identification et dosage des substances protéiques dans les miels. *Ann. falsif.*, janvier 1911, p. 36.
Moreau (Ed.). Etude biologique des miels. *Annales falsif.*, février 1911, p. 65.
Moreau (Ed.). Analyse biologique des miels. *Ann. falsif.*. mars 1911, p. 145.
Witte (D.-H). *Zeitschrift für Unter. der Nahr. Genussmittel*, p. 305.
Hartmann (W.). id. p, 374.
Heiduschka und Kaufmann (G). id. p. 375.
Muttelet (F.). Contribution à l'étude des miels. *Ann. falsif.*, avril 1911, p. 192.
Sartory (Ad.) et Moreau (E.). Contribution à l'étude bactériologique du miel. *Ann. falsif.*, mai 1911.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION ....

PREMIÈRE PARTIE

Le miel 9
Définition 9
Sources naturelles du miel-Nectar 10
— Miellée 14
Sources artificielles 16
Extraction du micl 17

DEUXIÈME PARTIE

Examen du miel 18
Examen organoleptique 19
— microscopique 19
— saccharimétrique 19
— chimique 27

Identification el dosage des subslances protéiques 27
Recherche et dosage de la dexlrine 36
Dosage de l'eau 37
Dosage de l'acidilé 38
Dosage et examen des cendres 39

Analyses des miels français 40

Examen biologique 47
Isolement des ferments 48
Dosage de l'amylase 54
— *inverline* 56
Recherche des oxydases 57
— *et dosage de la catalase* 58

Pages
Tableaux des résultats de l'examen biologique 60
Examen bactériologique.. 61
Tableaux des résultats de l'examen bactériologique................ 65

Etude de la bactérie jaune (bacillus mellis) sur les différents milieux de culture employés en bactériologie.... 66
Etude biochimique dé cette même bactérie...... 68

TROISIÈME PARTIE

Falsifications du miel 72

Amidon et farine 72
Gélatine 73
Gomme... . 74
Glucose 75
Saccharose et mélasses 79
Sucre interverti par voie chimique.......... 81
— *biologique*................. 86
Réaction de Ley 86

Recherche des antiseptiques............. 88

Acide formique.. 88
Acides benzoïque, salicylique, abrastol, saccharine............. 90
Chromates, fluorures, borates....... 94
Acide sulfureux et sulfites.............. 95

QUATRIÈME PARTIE

Miels toxiques............ 99

CONCLUSIONS 107

BIBLIOGRAPHIE 109

Saint-Brieuc. — Typ. F. Guyon — (1318-5-11).



Saint-Brieuc. — Typ. Guyon